PHYTOPATHOLOGISCH LABORATORIUM

„WILLIE COMMELIN SCHOLTEN"

BAARN

MEDEDELING No. 21

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN PFLANZENPARASITEN VERTICILLIUM ALBO-ATRUM REINKE ET BERTH.

With a summary:

Studies on Verticillium albo-atrum Reinke et Berth.

VON

G. VAN DEN ENDE

abst 27.2.59.
carded S41t

SONDERDRUCK AUS: ACTA BOTANICA NEERLANDICA 7: 665–740, 1958

COMMONWEALTH MYCO…
6 MAR 1959

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN PFLANZENPARASITEN VERTICILLIUM ALBO-ATRUM REINKE ET BERTH.

G. VAN DEN ENDE

(*Phytopathologisches Laboratorium "Willie Commelin Scholten", Baarn*)

(*Eingegangen am 12. Aug. 1958*)

INHALT

		Seite
I.	EINLEITUNG	666
II.	BESPRECHUNG DER LITERATUR	667
	1. Morphologie und Systematik	667
	2. Der Lebenszyklus	668
	3. Toxinbildung	669
	4. Die Pathogenität von *Verticillium*	670
	5. *Verticillium* als Bodenbewohner	671
	6. Die Ruhestadien von *Verticillium*	672
	7. Die Bekämpfung von *Verticillium*	672
III.	MATERIAL UND METHODEN	673
	1. Die Herkunft des untersuchten *Verticillium*-Materials	673
	2. Die Isolierung von *Verticillium* und die Herstellung von Reinkulturen	675
	3. Die Herstellung von Einsporkulturen	676
	4. Die Entwicklung der Konidienträger	676
	5. Bestimmung der Wachstumschnellheit	676
	6. Schüttelkulturen von *Verticillium*	677
	7. Die bei Infektionsversuchen angewendeten Methoden	677
	8. Bestimmung des Welke-Indexes	679
IV.	VERSUCHSERGEBNISSE	680
	1. Morphologische und physiologische Untersuchungen	680
	a. Verschiedene *Verticillium*-Typen und ihre Entwicklung	680
	b. Sporenmessungen und Entwicklung der Konidienträger	681
	c. Physiologische Untersuchungen	684
	2. Der Lebenszyklus	688
	a. Das Eindringen des Pilzes in die Wurzeln	688
	b. Die Entwicklung und Ausbreitung des Pilzes in der Pflanze	690
	3. Die Bildung von Toxinen	694
	a. Die Toxizität von Kulturfiltraten	694
	b. Der Einfluss des Mycelalters auf die Toxizität des Filtrates	696
	c. "Replacement"-Kulturen	697
	d. Unterschiede in der toxischen Wirkung von Stämmen und Arten verschiedener Herkunft	698
	e. Vergleich der Symptome, wie sie durch Toxine und durch den in den Pflanzen anwesenden Pilz verursacht werden	701
	4. Die Pathogenität von *Verticillium*-Stämmen	702
	a. Die Anwendung verschiedener Infektions-Methoden	702
	b. Infektionsversuche auf *Impatiens balsamina*	703
	c. Infektionsversuche auf *Fraxinus excelsior*	704
	d. Kreuzweise Infektionsversuche	706
	e. Der Passage-Effekt	710
	f. Die Abhängigkeit der Pathogenität vom Vorhandensein oder Fehlen von Mikrosklerotien oder dunklem Mycel	711

5. *Verticillium* als Bodenbewohner 714
a. Die Ausbreitung von *Verticillium* im Boden 714
b. Der Aufbau und Abbruch von *Verticillium* im Boden . . . 719
c. Die Lebensfähigkeit von *Verticillium* im Boden 721
d. Die Ruhestadien von *Verticillium* im Boden 722
6. Einige Bemerkungen über die Bekämpfung von *Verticillium* . . 725
a. Der Einfluss des Fruchtwechsels auf *Verticillium* 725
b. Sanitäre Massnahmen 727
c. Unkräuter als Zwischenwirte von *Verticillium* 727
d. Züchtung von resistenten Rassen 728
V. Besprechung und Zusammenfassung der Resultate 729
1. Morphologie und Umgrenzung 729
2. Pathogenität 732
3. Die Toxizität 733
4. *Verticillium* als Bodenbewohner (Lebensdauer im Boden) 733
5. Massnahmen zur Bekämpfung von *Verticillium* 735
VI. Summary 735
VII. Literatur 738

I. EINLEITUNG

Unter den in den Niederlanden vorkommenden Pflanzenkrankheiten spielen die Gefäss- und Fusskrankheiten eine grosse Rolle. Eine Ursache von Tracheomykosen ist *Verticillium*, in der Literatur bekannt unter den Namen *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berth. und *Verticillium dahliae* Klebahn. Diese Pilze sind echte Gefässparasiten, die in zahlreichen Pflanzen leben können und vor allem während den letzten Jähren wiederholt aus Kulturpflanzen isoliert wurden, von denen sie vorher nicht bekannt waren. *Verticillium* wird in allen Teilen des Landes angetroffen und verursacht bei der Zierpflanzenzucht wie beim Obst-, Saat- und Landbau einen oft grossen Ausfall. Die Krankeit kommt nicht nur in unserem Lande vor, sondern ist über einen grossen Teil der Erde verbreitet. Nur aus tropischen Gebieten wird sie wenig erwähnt. Ihr Umfang und der Ernst wechselt jährlich und ist weitgehend von Witterungseinflüssen abhängig.

Um die Beziehungen eines Parasiten zu seiner Wirtspflanze erkennen zu können, ist vorerst eine genaue Kenntnis der Morphologie und der physiologischen Möglichkeiten des Krankheitserregers nötig. Daher wurden an erster Stelle die beiden *Verticillium*arten in morphologischer und physiologischer Hinsicht miteinander verglichen. Hierzu gehört auch das Studium der toxischen, durch den Parasiten abgeschiedenen Stoffe. Die bei einer *Verticillium*-Krankheit auftretende Welke ist gewöhnlich nicht die Folge von Wassermangel, sondern beruht auf der Wirkung von bestimmten vom Pilz abgeschiedenen Stoffwechselprodukten.

Viele Untersuchungen der letzten Jahre beschäftigten sich mit der biologischen Spezialisierung von bestimmten, morphologisch einheitlichen Pilzarten. Gewisse Parasiten, z.B. *Erysiphe*- oder *Colletotrichum*arten erwiesen sich hierbei als polyphag, während bei anderen z.B. bei vielen Uredineen und bei *Fusarium*arten eine Aufspaltung in zahlreiche, eng an bestimmte Nährpflanzen gebundene Formen

vorgenommen werden musste. Bei *Verticillium* ist noch verhältnismässig wenig über eine Spezialisierung an gewisse Wirte bekannt; öfters wird eine weitgehende Gebundenheit an bestimmte Wirtspflanzen angenommen. Wohl wissen wir, dass bestimmte Stämme virulenter sind als andere. Der mehrmals unter natürlichen Umständen reproduzierte Uebergang eines bestimmten *Verticillium*-Stammes von einer Pflanzenart auf eine andere zeigte aber, dass viele Stämme einen grösseren Wirtekreis haben. Die Stärke und der Umfang eines *Verticillium*-Befalles scheint dagegen weitgehend vom Grade der Bodenverseuchung und von der Struktur des Bodens abhängig zu sein.

Unter natürlichen Umständen kann die Entwicklung von *Verticillium* im Boden durch die Wirkung von anderen Mikro-Organismen gehemmt werden. Im Verband hiermit wird auch die Möglichkeit einer biologischen Bekämpfung im Boden erörtert.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden ausgeführt, um nachzugehen, inwieweit zwischen den beiden Arten morphologische oder pathologische Unterschiede bestehen und um eine bessere Kenntnis der Wechselbeziehungen der verschiedenen *Verticillium*-Typen zu einigen ihrer Wirtspflanzen und über ihr Verhalten im Boden zu gewinnen.

II. BESPRECHUNG DER LITERATUR

1. Morphologie und Systematik

Reinke und Berthold (1879) beschrieben bei der Kartoffel eine Krankheit, die durch einen Pilz verursacht wurde. Diesem gaben sie den Namen *Verticillium albo-atrum*. Der Pilz besitzt ein Ruhestadium, das sie "Dauermycel" nannten. Dieses besteht aus dunklen Hyphen, die bündelweise beieinander liegen und bei welchen die einzelnen Fäden in keiner Weise seitlich miteinander in Verbindung stehen. Klebahn (1913) beschrieb bei Dahlia, Var. Geiselher, eine Welkekrankheit und nannte deren Ursache *Verticillium dahliae*. Dieser Pilz wich morphologisch von der durch Reinke und Berthold (1879) beschriebenen *Verticillium albo-atrum* durch die Bildung von Mikrosklerotien ab. Diese Autoren sprachen nicht von Mikrosklerotien, aber von Dauermycelien, die, nach der Beschreibung und den Abbildungen beurteilt, von den durch Klebahn (1913) beschriebenen Mikrosklerotien abwichen. Ferner wies Klebahn (1913) auf einen Unterschied in der Länge der Konidienträger hin. Bei dem durch Reinke und Berthold (1879) beschriebenen Pilz waren diese unten dunkel gefärbt, während sie bei *Verticillium dahliae* farblos sein sollten. Nach späteren Autoren wie Wollenweber (1930), Rudolph (1931) und Presley (1941) sollen sich die beiden Arten nicht unterscheiden lassen.

Isaac (1949) beschrieb einen anderen *Verticillium*-Typus mit dunklen, aber einzeln verlaufenden Hyphen, die im hellen Mycel verteilt lagen. Nach drei Wochen Wachstum auf Pflaumen- und Kirschenagar in Petrischalen fand er bei diesem Typus Hyphenknäuel, die jedoch aus einzelnen, durcheinander gewachsenen Fäden bestanden und nicht zur Sprossung übergingen. Sie wurden vor allem

angetroffen, wenn mehr als eine Kolonie des Pilzes auf denselben Agarboden geimpft worden war. Isaac stellte vor, für diesen Typus den Namen *V. albo-atrum* zu gebrauchen und den Namen *V. dahliae* für Mikrosklerotien bildende Typen zu reservieren. Gegen diesen Vorschlag bestehen jedoch einige Beschwerden: Das Auftreten von zwei verschiedenen Ruhestadien, nämlich von Mikrosklerotien und von dunklen, nicht gebündelten Hyphen wurde von KEYWORTH (1952), von McKEEN (1943) und von LONGRÉE (1940) in ein und derselben Isolierung gefunden. Ferner erhielt PRESLEY (1941) dieselben Stadien aus Saltanten einer Einsporkultur von *Verticillium*, die er aus einer *Chrysanthemum*-Pflanze isoliert hatte. In gewissen Fällen lassen sich daher die beiden Arten auf Grund von morphologischen Merkmalen nicht unterscheiden. Aus diesem Grunde sollte die von Klebahn als *V. dahliae* beschriebene Art wieder mit *V. albo-atrum* Reinke et Berth. vereinigt werden. Dieser Name ist der ältere und muss für den Pilz gebraucht werden.

Viele Autoren wie BERKELEY (1928), DONANDT (1932) und WOLLENWEBER (1930) sprachen über weisse und schwarze oder sklerotienreiche und asklerotiale Stämme. Aus diesen Beschreibungen lässt sich nicht schliessen, mit welchem Typus die betreffenden Autoren gearbeitet haben, denn die gebrauchten Termen können sowohl zu *V. albo-atrum* wie zu *V. dahliae* passen.

In der Literatur sind ferner einige Chlamydosporen bildende Typen beschrieben worden. PETHYBRIDGE (1916a und b) isolierte von Kartoffeln zwei Typen und beschrieb sie als zwei nicht parasitäre Arten unter den Namen *V. nubilum* und *V. nigrescens*. Nach ISAAC (1953a) sind diese jedoch bis zu einem gewissen Grade pathogen. Dieser Autor beschrieb noch einen dritten Typus mit Chlamydosporen und gab ihm den Namen *V. tricorpus*. Diese Art zeichnete sich neben Chlamydosporen noch durch Mikrosklerotien und dunkle Hyphen aus und griff bei Infektionsversuchen nur Tomaten an.

VAN DER VEEN (1930) trennte *V. albo-atrum* von *V. dahliae* durch ein unterschiedliches Wachstum auf und in flüssigen Nährböden. VAN DER MEER (1925) gab noch einige weitere Merkmale an, um die beide Arten zu unterscheiden, nämlich eine schnellere Entwicklung von *Verticillium dahliae* nach der Keimung und Unterschiede in der Verzweigung der Konidienträger und in der Grösse der Sporen. Vor allem amerikanische Autoren verstehen gegenwärtig unter dem Namen *Verticillium albo-atrum* sowohl den durch REINKE und BERTHOLD (1879) als den durch KLEBAHN (1913) beschriebenen Typus. Andere Autoren dagegen gebrauchen ihn nur für *Verticillium*-Stämme mit einem dunklen Mycel. Dieses besteht dann aus losen dunklen Hyphen. Diese wurden dagegen durch REINKE und BERTHOLD (1879) nicht erwähnt, denn sie beschrieben nur ein sogenanntes Dauermycel.

2. DER LEBENSZYKLUS

Das Eindringen von *Verticillium* in die unterirdischen Teile der Pflanzen wurde durch VAN DER MEER (1925) bei Kartoffeln und Gurken beobachtet. Sie fand, dass der Pilz in die Wurzelhaare, aber

Box: IA-

auch in die äussersten Zellagen der Wurzel eindringen kann. Die Zellen der Pflanzen reagieren durch die Bildung von "Lignitubers". Aber die Pilzhyphe vermag diese zu durchdringen. Dasselbe beobachtete auch Dufrenoy (1927). Isaac (1946) untersuchte das Eindringen des Pilzes in die Wurzeln der Esparsette. Er fand, dass der Pilz durch die Wurzelhaube, durch Wurzelhaare und an Stellen, wo junge Seitenwurzeln gebildet wurden in die Pflanze einzudringen vermochte. Lignitubers konnte er dagegen nicht beobachten.

In der lebenden Pflanze konnte Klebahn (1913) den Pilz nur im Xylem der Stengel und Blattnerven finden. Sobald aber die Blätter abgestorben waren, konnte der Pilz in die benachbarten Gefässe und das umgebende Parenchym eindringen. Anatomische Veränderungen als Folge des Pilzbefalles wurden von Van der Lek (1918), Van der Meer (1925), Wollenweber (1930) und von Arnaud und Barthelet (1931) beschrieben. Die wichtigsten Symptome sind eine gelbe oder braune Verfärbung des Xylems und die Bildung von Thyllen, ferner die Anwesenheit von Mycel in den Gefässen. In einzelnen Fällen wurden in diesen auch Konidien und Mikrosklerotien beobachtet.

3. Toxinbildung

Um die nach Pilzinfektionen auftretenden Welkesymptome zu erklären, wurden in der Literatur verschiedene Theorien entwickelt. Die folgenden Auffassungen wurden im Laufe der Jahre nach vorne gebracht: Um die in den Gefässen anwesenden Nährstoffe sollte eine Konkurrenz stattfinden zwischen der Pflanze und dem Parasiten. Die Ursache der Welke wurde in einer Verstopfung der Gefässe durch Mycel gesucht (Aderhold, 1907; Harter und Field, 1914); dies erwies sich aber bald als unrichtig. In den letzten Jahren wird die Ursache der Symptome an Toxine zugeschrieben, die durch die betreffenden Pilze gebildet werden (Scheffer c.s., 1956; Talboys, 1957; Hallier und Hallier–Kiessig, 1957). Durch diese kann der Pilz seinen Einfluss in Teilen der Pflanze ausüben, in die er selbst noch nicht vorgedrungen ist.

Über die Zusammenstellung der Toxine und deren Einfluss auf die Pflanze besteht eine umfangreiche Literatur. Am besten bekannt sind die durch *Fusarium oxysporum* Schlecht. ex Fr. f. *lycopersici* (Sacc.) Snyder und Hansen gebildeten Toxine. Dieser Pilz ist die Ursache einer Welkekrankheit von Tomaten. Hier sollen nur Arbeiten besprochen werden, die die durch *Verticillium* verursachten Welkekrankheiten behandeln.

Bereits Bewley (1922) beobachtete, dass *Verticillium* in Reinkulturen Toxine zu bilden vermochte. Er fand einen in Wasser löslichen, thermolabilen Stoff. Picado (1923) erhielt selbst mit verhitztem Kulturfiltrat von *Verticillium* eine Welke von Tomaten- und Bohnentrieben. Dufrenoy (1927) glaubte, dass *Verticillium* Nitrite bildet, die eine toxische Welke verursachen. Dies konnte jedoch durch Green (1954) nicht bestätigt werden. Fulton (1952) betrachtete das Toxin als einen Komplex von Verbindungen, die in ihrem Molekulargewicht

variierten. Caroselli (1955) fand in Schüttelkulturen zwei toxische, metabolistische Produkte. Eines der beiden, ein Polysaccharid verursachte einen Turgorverlust und dadurch ein Verschlaffen der Stengel. Das andere, ein Thio-ureum, gab eine Beschädigung der Blätter, nämlich eine Welke, eine Chlorose und ein irreversibles Vertrocknen der Blattränder. Dieses Thio-ureum wurde aber nur in 40 Prozent der Kulturen gebildet. In synthetischen Medien fanden Porter und Green (1952) eine toxische Fraktion, die aus einem Komplex von Polysacchariden mit sehr heterogenen Molekulargewichten bestand. Zwei Fraktionen wurden isoliert und diese übten in der Pflanze an zwei verschiedenen aber nicht näher präzisierten Stellen eine Wirkung aus. Auch Le Tourneau (1957) fand Polysaccharide und zwar drei Oligosaccharide, die in einem Czapekmedium mit 3 % Saccharose gebildet wurden.

Bereits Bewley (1922) fand in seinen Kulturfiltraten toxische Stoffe von exo-enzymatischer Natur. Winstead und Walker (1954) zeigten aber, dass die Polymethylesterase, die durch verschiedene Pilze in vitro gebildet wird, beim Eindringen dieser Pilze in eine Pflanze keine Rolle spielt. Dieses Ferment verursacht dagegen nach dem Eindringen eine Braunverfärbung und Blockierung der Gefässe. Auch Scheffer c.s. (1956) fanden in Kulturfiltraten von *Verticillium* einen thermolabilen Stoff, der das Xylem verfärbte. Aus diesen Kulturfiltraten liessen sich Polygalacturonase und sehr wenig Pektinmethylesterase isolieren. Die genannten Autoren glaubten, dass *Verticillium* die Tomatenpflanzen ungefähr auf die gleiche Art und Weise befällt wie *Fusarium*. Die auftretende Welke ist nach ihnen vor allem eine Folge der Blockierung des Xylems durch eine Erhöhung der Viskosität der Gefässflüssigkeit.

Gottlieb (1943) gelang es, auch die durch den Pilz in vivo geformten Toxine nachzuweisen. Er gewann aus den Gefässen von kranken Tomatenpflanzen eine Flüssigkeit, die auf abgeschnittene Tomatenschösslinge als Toxin wirkte. Die Möglichkeit ist jedoch nicht ausgeschlossen, dass dieser aus den Gefässen isolierte Stoff durch Pflanzenzellen abgeschieden wurde, die durch den Pilz befallen worden waren. Auch Porter und Green (1952) konnten aus Gefässen von durch *Verticillium* befallenen Tomatenpflanzen eine Flüssigkeit isolieren, die sich für junge Tomatenpflänzchen als toxisch erwies. Sie haben jedoch noch nicht festgestellt, ob dieser Stoff identisch ist mit den in vitro gebildeten Toxinen.

Über das Verhältnis zwischen dem Vermögen von *Verticillium*-Stämmen, Toxine zu bilden und dem Vermögen, auf Pflanzen Welkesymptome zu verursachen, ist noch wenig bekannt. Nur Talboys (1957) zeigte, dass die Intensität der durch Toxine bei Hopfen ausgelösten Symptome nicht korrelierte mit der Pathogenität der betreffenden *Verticillium*-Stämme.

4. Die Pathogenität von Verticillium

Über die Pathogenität von *Verticillium* sind bisher zahlreiche Untersuchungen ausgeführt worden. Um die Virulenz eines *Verti-*

cillium-Stammes zu bestimmen, wurden im Laufe der Zeit verschiedene Krankheitsymptome der Wirtspflanzen gebraucht. Selbstverständlich spielte hierbei das Ausmass der eigentlichen Welke die wichtigste Rolle (DONANDT, 1932), aber auch weniger auffallende Symptome wie das Zurückbleiben des Wuchses oder das Vergilben der Pflanzen wurden als Kriterien angenommen. LUDBROOK (1933) basierte sein Urteil über das Ausmass der Pathogenität auf die Dauer der Inkubationszeit, während HORNER (1954) einen *Verticillium*-Stamm als pathogen betrachtete, sobald dieser aus einer infektierten Wirtspflanze reisoliert werden konnte.

BEWLEY (1922), PRESLEY (1950) und NELSON (1950) fanden bei gewissen Mikrosklerotien bildenden Stämmen eine höhere Pathogenität als bei Stämmen ohne Mikrosklerotien. Daraus leiteten sie eine Beziehung ab zwischen der Virulenz und dem Vermögen, Mikrosklerotien zu bilden. Dies erwies sich jedoch nicht als algemein gültig (WOLLENWEBER, 1930; DONANDT, 1932). Aus den bekannt gewordenen Untersuchungen lässt sich wohl ableiten, dass die durch zahlreiche Isolierungen erhaltenen Reinkulturen bei Infektionsversuchen sehr grosse Unterschiede in ihrer Pathogenität zeigten (LUDBROOK, 1933).

In der Literatur sind Beispiele bekannt, bei welchen von bestimmten Wirtspflanzen isolierte Verticillium-Stämme für Vertreter derselben und anderer Familien der Phanerogamen pathogen waren. Oft ist auch eine Infektion von krautartigen Pflanzen mit aus Bäumen oder Sträuchern isolierten Stämmen gelungen und umgekehrt (VAN DER MEER, 1925; DONANDT, 1932). In anderen Fällen gelangen kreuzweise Infektionsversuche nicht (HAENSELER, 1923; VAN DER MEER, 1925; WOLLENWEBER, 1930; DIMOCK, 1940; TOMPKINS c.s., 1941; KEYWORTH, 1942; NELSON, 1950). Da die verschiedenen Autoren bei ihren Untersuchungen mit sehr verschiedenartigen Wirtspflanzen gearbeitet haben, lassen sich die Resultate nur schwierig miteinander vergleichen. In den meisten Fällen wird nicht deutlich angegeben, inwieweit die Versuche mit genetisch einheitlichem Material ausgeführt wurden. Wahrscheinlich verwendete nur PRESLEY (1950) Einsporkulturen des Pilzes.

Einerseits konnte NELSON (1950) aus *Mentha piperita Verticillium*-Stämme isolieren, die bei Infektionsversuchen nur für *Mentha* spp. und *Monarda fistulosa* virulent waren und nicht für andere Pflanzen. GREEN (1951), HORNER (1954) und THOMAS und WEBB (1956) anderseits isolierten aus *Mentha* Stämme, die sich als polyphag erwiesen. Algemein wird heute angenommen, dass die verschiedenen *Verticillium*-Stämme nicht an bestimmte Wirtspflanzen gebunden sind. Nach wiederholten Passagen einer Einsporkultur durch eine bestimmte Wirtspflanze konnte DONANDT (1932) keine Zunahme der Pathogenität für diese Pflanze beobachten.

5. VERTICILLIUM ALS BODENBEWOHNER

Sowohl VAN DER MEER (1925) wie ISAAC (1953a) zeigten, dass *Verticillium* im Boden überwintern kann. Nach Isaac lief jedoch die Konzentration des Pilzes in brach liegender Erde im Laufe des

Jahres sehr stark zurück. Dagegen konnte Wilhelm (1955a) *Verticillium* noch aus einem Boden isolieren, der während 14 Jahren als Getreideacker oder Weideland gedient hatte. Hierbei besteht jedoch die Möglichkeit, dass sich *Verticillium* während dieser Zeit auf Unkräutern hätte erhalten können, was von Wilhelm nicht berücksichtigt wird. Nach den Angaben von McKeen (1943) war der Pilz nach einer einjährigen Periode noch parasitär. Wohl vermochte er sich in feuchten Böden besser zu erhalten als in trockenen; auch schien er in letzteren an Agressivität eingebüsst zu haben.

Wilhelm (1950a) untersuchte die vertikale Verbreitung in Böden von verschiedener Tiefe. Er fand, dass der Pilz in den oberen 30 cm des Bodens, verglichen mit den tieferen Schichten, in 3–4 fältiger Konzentration anwesend war. *Verticillium* konnte in gewissen Fällen bis auf eine Tiefe von 75–90 cm gefunden werden. Bei im Freien gepflanzten Kartoffeln beobachtete McKay (1926) von den befallenen Pflanzen aus den Reihen entlang eine starke Ausbreitung des Pilzes in horizontaler Richtung. Er führte dies auf den Wurzelkontakt der nebeneinander stehenden Pflanzen zurück. Isaac (1953a, b) kam zum Resultat, dass die Ausbreitung in brachen Böden sehr gering ist. Mit Hilfe von mit Tomaten und Löwenmaul ausgeführten Versuchen zeigte er, dass die Ausbreitung im Boden vor allem durch Wurzelkontakt stattfinden muss.

6. Die Ruhestadien von Verticillium

Das Fehlen einer geeigneten Wirtspflanze hat wahrscheinlich zur Folge, dass die beiden *Verticillium*-Typen in eine Ueberwinterungsform übergehen müssen; dies kann in Form von Dauermycel oder Mikrosklerotien geschehen (Isaac, 1953a). Klebahn (1913), Pethybridge (1916) und Bewley (1922) glaubten, dass *Verticillium* als Dauermycel im Boden überwintert. Isaac (1953a) äusserte sich hierüber aber sehr vorsichtig. Wohl soll nach Isaac (1954) das Entstehen von weitgehend resistenten Ruhestadien durch die antagonistische Wirkung von *Blastomyces luteus* befördert werden. Anderseits soll dieser Pilz eine hemmende Wirkung auf die Keimung der Mikrosklerotien und auf die Entwicklung der Dauermycelien im Boden ausüben.

Dass die Mikrosklerotien keimfähig sein müssen, glaubte Porter (1954) durch seine Versuche bewiesen zu haben. Auch Klebahn (1913) vermochte den Pilz aus Mikrosklerotien neu zu züchten. Nach dem Ueberimpfen von 13 Jahre alten, völlig vertrockneten *Verticillium*-Kulturen mit Mikrosklerotien erhielt Wilhelm (1955a) ein erneutes Wachstum des Pilzes.

7. Die Bekämpfung von Verticillium

Hier soll nur auf eine mögliche Bestreitung von *Verticillium* durch den Gebrauch von gewissen bodenbewohnenden, antagonistisch wirkenden Mikroorganismen eingegangen werden. Ark und Hunt (1931) isolierten zwei Bakterien, worunter *Bacillus vulgatus* Trev., die in vitro auf *Verticillium* als Antagonisten wirkten. Florey, Gilliver,

Jennings und Sanders (1946) gewannen aus *Penicillium brevicompactum* Dierckx ein Antibioticum, das in vitro das Wachstum von *Verticillium* völlig zu hemmen vermochte. Ein sehr wirksames Antibioticum isolierten ferner Arnstein, Cook und Lacey (1948) aus Actinomyceten.

Roberts (1943) zeigte, dass auch im Boden bestimmte Mikroorganismen die Entwicklung von *Verticillium* hemmen können. Der Pilz wurde in Böden gebracht, die mit Dampf sterilisiert worden waren. Bei den in diesen gepflanzten Tomaten war die Zahl der erkrankten Pflanzen sehr hoch. Wenn dagegen vor dem Auspflanzen der Tomaten auch Mikroorganismen die Gelegenheit hatten, die sterilisierten Böden zu kolonisieren, lag der Prozentsatz der erkrankten Pflanzen bedeutend tiefer.

III. MATERIAL UND METHODEN

1. Die Herkunft des untersuchten Verticillium-Materials

Die bei den hier zu besprechenden Versuchen gebrauchten *Verticillium*-Stämme wurden vom "Centraal Bureau voor Schimmelcultures" (C.B.S.) in Baarn, dem "Instituut voor Planteziektenkundig Onderzoek" (I.P.O.) in Wageningen, dem "Nederlands Vlasinstituut" (N.E.V.I.), dem "Planteziektenkundige Dienst" (P.D.) beide ebenfalls in Wageningen, der "Proefstation voor de groente- en fruitteelt onder glas" in Naaldwijk und der Stiftung "Bosbouw-proefstation de Dorschkamp" (B.P.) in Wageningen erhalten [1]) (Tabelle 1). Ein Teil der Stämme wurde jedoch selbst isoliert aus zugeschickten oder selbst gesammelten Pflanzen.

Aus allen Teilen der Niederlande wurden insgesamt 70 *Verticillium*-Stämme beieinander gebracht; ferner wurden noch 10 Stämme aus England, einer aus Amerika und einer aus Mozambique erhalten (Tabelle 1). Diese Stämme waren aus 28 verschiedenartigen Wirtspflanzen isoliert. Um über ein möglichst homogenes Material verfügen zu können, wurden von mehreren Stämmen Einsporkulturen hergestellt. Auch wurde probiert, von einigen Einsporkulturen Saltanten zu isolieren, die einerseits nur ein weisses Mycel, anderseits schwarze Hyphen und Mikrosklerotien bildeten. Derartige Saltanten wurden dann gesondert weiter gezüchtet. Es war jedoch schwierig, um die weissen Saltanten völlig frei von Mikrosklerotien oder dunklen Hyphen zu züchten. Keiner der Stämme, wo er auch herkommen mochte, bestand ausschliesslich aus weissem Mycel. Wohl wurden beim Herstellen von Einsporkulturen aus ein und derselben Isolierung Kulturen erhalten, die ausschliesslich ein weisses Mycel, und solche, die mehr oder weniger zahlreiche Mikrosklerotien bildeten.

[1]) Hierfür möchte ich Dr. C. J. Briejer, Frl. Dr. C. Klinkenberg, Frau Ir. M. Post-Bakker, Ir. J. van der Spek, Drs. K. Verhoeff, Dr. H. van Vloten und Prof. Dr. Joha Westerdijk meine Erkenntlichkeit bezeugen. Auch möchte ich den Herren W. Drost, Drs. J. Heiner, C. Hos, Drs. G. Scholten und Ir. W. Visser meinen Dank aussprechen. Sie sandten mir krankes Pflanzenmaterial oder stellten mich in die Gelegenheit solches zu sammeln.

TABELLE 1

Herkunft und Typen-Zugehörigkeit der untersuchten *Verticillium*-Stämme

No.	Isoliert aus	Herkunft	Typ.[2])	Jahr der Isolierung
1	*Solanum lycopersicum*	Naaldwijk (Bakker I.P.O.)	d.M.	1953
2	*Solanum lycopersicum*	England (Isaac C.B.S.)	d.M.	1951
3	*Antirrhinum majus*	England (Isaac C.B.S.)	d.M.	1951
4	*Humulus lupulus*	England (Keyworth C.B.S.)	d.M.	1949
5	*Fragaria* spec.	England (Keyworth C.B.S.)	d.M.	1946
6	*Aster chinensis*	Baarn [1])	Mskl	1954
7	*Helichrysum bracteatum*	Baarn [1])	Mskl	1954
8	*Antirrhinum majus*	Baarn [1])	Mskl	1954
9	*Antirrhinum majus*	Baarn [1])	Mskl	1954
10	*Chynandropsis* spec.	Baarn [1])	Mskl	1954
11	*Phlox decussata*	Baarn [1])	Mskl	1954
12	*Antirrhinum majus*	Baarn [1])	Mskl	1954
13	*Alstroemeria aurantiaca*	Baarn [1])	Mskl	1954
14	*Antirrhinum majus*	Baarn [1])	Mskl	1954
15	*Gerbera jamesoni*	Aalsmeer [1])	Mskl	1954
16	*Humulus lupulus*	England (Keyworth C.B.S.)	Mskl	1953
17	*Gossypium* spec.	Mozambique (Teixeira C.B.S.)	Mskl	1954
18	*Solanum tuberosum*	England (Isaac C.B.S.)	d.M.	1951
19	*Solanum lycopersicum*	Naaldwijk (Bakker I.P.O.)	Mskl	1953
20	*Fragaria Oberschlesien*	Kennemerland (Klinkenberg I.P.O.)	Mskl	1951
21	*Solanum tuberosum*	England (Keyworth C.B.S.)	Mskl	1947
22	*Mentha piperita*	U.S.A. (Porter No. B11b)	Mskl	1954
23	*Solanum tuberosum*	England (Isaac C.B.S. *V.nigrescens*)	Chl	1951
24	*Solanum tuberosum*	England (Isaac C.B.S. *V.nubilium*)	Chl	1951
25	*Impatiens balsamina*	Baarn [1])	Mskl	1955
26	*Chrysanthemum* spec.	Naaldwijk (Bakker I.P.O.)	Mskl	1953
27	*Fraxinus excelsior*	Wageningen (Gremmen B.P.)	Mskl	1953
28	*Ulmus hollandica*	'sHeer Arenskerke (Heybroek B.P.)	Mskl	1954
29	*Beta vulgaris*	Zeeland (de Lint P.D.)	Mskl	1954
30	*Medicago sativa*	Nieuw Beerta [1])	d.M.	1955
31	*Medicago sativa*	Brielle [1])	d.M.	1955
32	*Cichorium intybus*	Naaldwijk (Verhoeff P.G.F.G.)	Mskl	1957
33	*Linum usitatissimum*	Wageningen (v.d.Spek N.E.V.I.)	Mskl	1957
34	*Rhus typhina*	Baarn [1])	Mskl	1954
35	*Acer* spec.	Wageningen (Gremmen B.P.)	Mskl	1953
36	*Ribes rubrum*	Naaldwijk (Bakker I.P.O.)	Mskl	1953
37	*Solanum lycopersicum*	Alkmaar (Bakker I.P.O.)	Mskl	1953
38	*Beta vulgaris* Hilleshög	Oldambt [1])	Mskl	1955
39	*Beta vulg.* Kl. Wanzl.	Oldambt [1])	Mskl	1955
40	*Chrysanth.* Balc. Perfect.	Aalsmeer [1])	Mskl	1954
41	*Atropa belladonna*	Bussum [1])	Mskl	1955
42	*Chrysanthemum* spec.	Naaldwijk (Bakker I.P.O.)	Mskl	1953
43	*Spinacia* spec.	Md.Wolda [1])	Mskl	1955
44	*Solanum lycopersicum*	England (Isaac C.B.S. *V.tricorpus*)	Chl	1954
45	*Chrysanthemum maximum*	Aalsmeer [1])	Mskl	1954
46	*Fragaria* spec.	de Goor (Klinkenberg I.P.O.)	Mskl	1951
47	*Fragaria* Mme Moutot	de Goor (Klinkenberg I.P.O.)	Mskl	1951
48	*Fragaria* Jucunda	Beek (Klinkenberg I.P.O.)	Mskl	1952
49	*Fragaria* spec.	Bommelerwaard (Klinkenberg I.P.O.)	Mskl	1952
50	*Fragaria* spec.	Bommelerwaard (Klinkenberg I.P.O.)	Mskl	1952
51	*Fragaria* Oberschlesien	Soest (Klinkenberg I.P.O.)	Mskl	1952
52	*Fragaria* Oberschlesien	Hooglanderveen (Klinkenberg I.P.O.)	Mskl	1952
53	*Fragaria* Oberschlesien	Hoogland (Klinkenberg I.P.O.)	Mskl	1952
54	*Fragaria* Mme Lefeber	St. Anna Parochie (Klinkenb. I.P.O.)	Mskl	1952

TABELLE 1 (*Fortsetzung*)

No.	Isoliert aus	Herkunft	Typ.[2])	Jahr der Isolierung
55	*Fragaria* Oberschlesien	Paterswolde (Klinkenberg I.P.O.)	Mskl	1952
56	*Fragaria* Oberschlesien	Midden-Limburg (Klinkenberg I.P.O.)	Mskl	1952
57	*Fragaria* Oberschlesien	de Wilp (Klinkenberg I.P.O.)	Mskl	1952
58	*Fragaria* spec.	Berlicum (Klinkenberg I.P.O.)	Mskl	1952
59	*Fragaria* Oberschlesien	de Wilp (Klinkenberg I.P.O.)	Mskl	1952
60	*Fragaria* Oberschlesien	Midden-Limburg (Klinkenberg I.P.O.)	Mskl	1952
61	*Fragaria* Sämling	Zaltbommel (Klinkenberg I.P.O.)	Mskl	1952
62	*Fragaria* Mme Moutot	Wageningen (Klinkenberg I.P.O.)	Mskl	1953
63	*Fragaria* Deutsch Evern	Middenrode (Klinkenberg I.P.O.)	Mskl	1953
64	*Fragaria* spec.	St. Anna Parochie (Klinkenb. I.P.O.)	Mskl	1952
65	*Fragaria* spec.	Midden-Limburg (Klinkenberg I.P.O.)	Mskl	1952
66	*Gerbera jamesoni*	Aalsmeer (de Leeuw P.D.)	Mskl	1952
67	*Lathyrus odorata*	Baarn [1])	Mskl	1954
68	*Solanum lycopersicum*	Naaldwijk (Bakker I.P.O.)	Mskl	1952
69	*Solanum lycopersicum*	Naaldwijk (Bakker I.P.O.)	Mskl	1952
70	*Solanum lycopersicum*	Naaldwijk (Bakker I.P.O.)	Mskl	1952
71	*Solanum lycopersicum*	Naaldwijk (Bakker I.P.O.)	Mskl	1952
72	*Solanum lycopersicum*	Zwolle (Bakker I.P.O.)	Mskl	1953
73	*Solanum lycopersicum*	Wageningen (Bakker I.P.O.)	Mskl	1953
74	*Solanum melongena*	Baarn [1])	Mskl	1954
75	*Solanum tuberosum*	Wageningen (de Leeuw P.D.)	Chl	1954
76–82	*Ulmus* Sämlingen	Baarn (Heybroek B.P.)	Mskl	1954

[1]) Eigene Isolierung.
[2]) Erklärung der Typen, siehe S. 680.

2. Die Isolierung von Verticillium und die Herstellung von Reinkulturen

Verticillium wurde meistens folgendermassen aus kranken Pflanzen isoliert. Nach dem Entfernen der Blätter wurden die Stengel, Zweige oder Blattstiele gut abgebürstet und mit Leitungswasser gespült. Da Verticillium im Xylem der Pflanzen vorkommt, kann man das Material kräftig desinfektieren. Zehn bis zwölf cm lange Stücke wurden während 15 Sekunden in 96 %-igen Alkohol getaucht. Hierauf wurde der Alkohol soweit möglich abgeschüttelt und der Rest wurde verbrannt. Hierzu wurden die Stengelstücke kurz durch eine Gasflamme gezogen. Unter sterilen Umständen wurden hierauf die Stengel in Stücke von 5–10 mm unterteilt. Diese wurden in Petrischalen auf Kirschenagar ausgelegt. Nach drei bis vier Tagen wächst der Pilz aus den Gefässen heraus und kann dann leicht in Reinkultur gebracht werden, indem man den Rand des heranwachsenden Rasens wiederholt auf frische Kirschenagar-Böden überimpft. Während der Kultur wurde der Pilz abwechslungsweise auf Kirschen-, Kartoffel- und Hafermehlagar geimpft. Beim Isolieren aus Blättern wurden diese zuerst in Leitungswasser gespült, dann kurz in Alkohol getaucht und hierauf schnell in steriles Wasser gebracht.

Beim Isolieren von *Verticillium* aus dem Boden wurde von den durch Brierley, Jewson und Brierley (1927) und von Warcup (1950) beschriebenen Methoden Gebrauch gemacht. Der ersten Methode folgend wurde 1 Gramm Erde in 50 cm³ sterilem Wasser während

20 Minuten geschüttelt. Hierauf wurde 1 cm^3 dieser Suspension in 19 cm^3 steriles Wasser gebracht, so dass eine Verdünnung von 1 : 1000 erhalten wurde. 1 cm^3 dieser Suspension wurde dann mit 15 cm^3 noch flüssigem, aber bereits gekühltem Czapek Dox-Agar gemengt. Dieses Gemisch wurde unter fortwährendem Schütteln in eine sterile Petrischale gegossen.

Der Methode von Warcup (1950) folgend wurde ein Stückchen Erde (ungefähr 1 mm^3) in eine sterile Petrischale gebracht. Unter dauerndem Schütteln wurde in diese 15 cm^3 auf ungefähr 40° C abgekühlter Czapek Dox-Agar (+ 0.5 % Hefeextrakt) gegossen. Hierbei verteilten sich die Grundpartikelchen gut im Agar. Der Nährboden war vorher mit Hilfe von Phosphorsäure auf pH 4 eingestellt worden.

3. Die Herstellung von Einsporkulturen

Mit Hilfe einer Thompson-Zählkammer für Blutkörperchen wurde vorerst die Dichtheit einer Sporensuspension festgestellt. Diese wurde in der Folge verdünnt, so dass theoretisch auf 0.05 cm^3 Wasser eine halbe Spore entfiel. Dies wurde in der Blutzählkammer nachgeprüft. Hierauf wurden je 0.05 cm^3 der Suspension auf sehr dünn gegossene Kirschen- oder Kartoffelagar-Schalen gebracht. Die Zahl der gekeimten Sporen aus 90 über 10 Schalen verteilten Tröpfchen variierte in den verschiedenen Proben zwischen 44 und 46. Bei grösseren Schwankungen wurden die Versuche wiederholt.

4. Die Entwicklung der Konidienträger

Um die Entwicklung der Konidienträger und die Bildung der Konidien gut beobachten zu können, erwies sich die von Vernon (1931) beschriebene Methode als sehr geeignet. Ein Tropfen von noch flüssigem Kirschenagar wurde auf einen sterilen Objektträger gebracht. Während der Agar erstarrte wurde der Tropfen mit einer sterilen Rasierklinge in senkrechter Richtung in zwei Teile geschnitten. Die beiden Stückchen wurden einige Millimeter auseinander geschoben. Gegen eine der beiden Seitenflächen wurde etwas Mycel geimpft. Hierauf wurde ein Deckgläschen auf das Tröpfchen gebracht. Im feuchten Mittelraum entwickelten sich dann die unter dem Mikroskop deutlich zu beobachtenden Konidienträger.

5. Bestimmung der Wachstumsschnellheit

Die Wachstumsschnellheit wurde in Petrischalen auf Kirschenagar gemessen. In handelsüblichen Schalen mit nach Möglichkeit flachen Böden wurden 20 cm^3 Agar gegossen. Von jedem Stamm wurde ein aus einer Petrischalen-Kultur gestanztes, 8 mm grosses Stückchen des Pilzrasens in die Mitte der Schalen geimpft. Nachdem sich nach einigen Tagen ein neuer Mycelrasen entwickelt hatte, wurde von diesem der Zuwachs während der folgenden vier Tage bestimmt. Gemessen wurde jeweils in acht verschiedenen Richtungen; aus den acht Messungen wurde die mittlere Wachstumsschnellheit berechnet. Beim Feststellen des Wachstums bei extremen Temperaturen wurde

der Durchmesser des gesammten Rasens in zwei sich rechtwinklig kreuzenden Richtungen gemessen. Auf diese Weise liess sich auch ein sehr geringes Wachstum noch einigermassen gut bestimmen.

6. Schüttelkulturen von Verticillium

Schüttelkulturen des Pilzes wurden einerseits als Ausgangsmaterial für Infektionsversuche, anderseits zur Nachprüfung von möglicherweise gebildeten Toxinen eingesetzt. Der Pilz wurde in je 125 cm^3 Czapek Dox-Nährlösung in Erlenmeyer–Kölben von 300 cm^3 geimpft und während zwei Wochen geschüttelt. Sogenannte "replacement" Kulturen wurden erhalten, indem das in einer Schüttelkultur entwickelte Mycel nach wiederholtem Ausspülen mit Leitungswasser und mit sterilem Wasser in eine frische Czapek Dox-Lösung gebracht wurde. Bei der hierbei verwendeten Nährlösung waren aber die verschiedenen Nährstoffe auf die Hälfte der ursprünglichen Konzentration zurückgebracht (Winstead und Walker, 1954). Die neue Kultur wurde hierauf während 24 Stunden in die Schüttelmachine gesetzt. Diese Kulturen wurde zur Gewinnung von Toxinen gebraucht.

Um Böden zu infizieren wurde u.a. Mycel aus während einer Woche geschüttelten Kulturen verwendet.

7. Die bei Infektionsversuchen angewendeten Methoden

Bei den verschiedenen Versuchen waren verschiedenartige Methoden zur Infektion der Pflanzen nötig. Bei Wundinfektionen wurde das Inokulum in Form eines ausgestanzten Stückchens Agar mit Mycel in eine Schnittwunde gebracht. Bei Kräutern wurde diese am Stengelfuss angebracht; bei Bäumen im Stamm auf ungefähr 20 cm Höhe. Im letztgenannten Fall wurde die Wunde mit Cellophan und Klebeband dichtgebunden.

Bei gewissen Infektionsversuchen mit Sporensuspensionen wurden diese mit Hilfe einer Injektionsspritze direkt in die Stengel oder Stämme der zu infizierenden Pflanzen eingeführt. Die hierbei entstandenen Wunden wurden nicht abgeschlossen.

Mit Hilfe der sogenannten "Trichtermethode" (Banfield, 1937) wurde eine Sporensuspension mit den Gefässen der zu infizierenden Pflanze in Verbindung gebracht. Hierbei blieb die Möglichkeit eines Luftzutrittes ausgeschlossen und die Transpiration der Pflanze konnte mehr oder weniger normal durchgehen. Rund um den Stamm wurde ein Trichter befestigt, der aus Plastik-Material bestand. Damit der Trichter offen stehen blieb, war er oben gesäumt und durch den Saum war ein Draht gezogen worden. Mit dem Verlängerungsstück dieses Drahtes wurde der Trichter auch am Baum befestigt (Abb. 1 und 2). Die Seitenkante des Trichters wurde geschlossen, indem die Ränder ineinander gefaltet und geleimt wurden. Zur Verstärkung wurde diese Seitenfläche mit Hilfe von drei Wäscheklammern noch zwischen zwei Lättchen geklemmt. Unten wurde der Trichter eingefettet und mit Hilfe von Sisalschnüren gut um den Stamm festgesetzt. Um den obern Rand des Trichters horizontal zu halten, wurde er noch mit Drähten gestützt. Der

Abb. 1

Abb. 2

Abb. 1 und 2. Trichter wie sie bei Infektionsversuchen nach der Trichtermethode (in diesem Falle bei *Fraxinus excelsior*) gebraucht wurden.

Trichter wurde nun mit der Sporensuspension gefüllt und unter der Oberfläche der Flüssigkeit wurde mit einem Meissel eine Schnittwunde angebracht, die bis in den Holzteil des Stammes ging. Auf diese Art und Weise wurden mit dem Transpirationstrom die Pilzsporen mitgenommen, ohne dass Luft in die Gefässe eindringen konnte.

Wenn man schnelle und sichere Resultate bei den zu infizierenden Pflanzen erhalten wollte, erwies sich das Eintauchen von Pflanzenwurzeln in eine Sporensuspension als sehr geeignete Infektionsmethode.

Auch wurde *Verticillium* in feuchter Gartenerde vermehrt, die zu diesem Zwecke vorher in Petrischalen oder Gläser gebracht und sterilisiert worden war. Die Erde wurde dann mit einer Sporensuspension oder mit Mycel beimpft.

Um mit *Verticillium* verseuchte Erde zu erhalten, wurde diese sterilisiert und mit sieben Tage alten Schüttelkulturen des Pilzes gemengt. Als Inokulum wurden oft auch Getreidekörner oder Lupinestengel gebraucht, die nach der Sterilisierung mit *Verticillium* beimpft wurden und als Nährböden dienten.

8. Bestimmung des Welkeindexes

Um die Pathogenität von *Verticillium*-Stämmen oder den Wirkungsgrad von Toxinen anzugeben, wurde ein Krankheitsindex aufgestellt. Hierbei wurde die Methode von Walker und Foster (1946) angewendet. Äussere Symptome wie der Grad und die Schnelligkeit der Welke und der Vertrocknung der Blattränder wurden als Massstab gebraucht, um die Pathogenität der *Verticillium*-Stämme oder die Toxizität der Kulturfiltrate anzugeben. Falls die Pflänzchen oder Triebe intakt bleiben mussten, konnten nur die äusserlichen Merkmale verwertet werden, während die inneren Veränderungen (vor allem Verfärbungen der Gefässe) ausser Betracht bleiben mussten. Daher konnte der von Wellmann (1939) angegebene Krankheits-Index nicht gebraucht werden.

Je nach dem Grad der Welke wurden fünf Klassen unterschieden: Klasse 1: äusserlich gesunde Pflanzen, Klasse 2–4: zunehmende Welke der Pflanzen, Klasse 5: total verwelkte Pflanzen. Die Ziffer der Klasse wurde vermehrt mit bzw. 0–4 und zwar so, dass die Klasse 5 mit 4, die Klasse 4 mit 3 usw. multipliziert wurde. Die Summe der Produkte aller Pflanzen von ein und derselben Versuchserie wurde mit 10 multipliziert und durch die mit zwei multiplizierte Anzahl der Versuchspflanzen geteilt. Durch diese Berechnung kommt der Welkeindex zwischen 0 und 100 zu liegen. Diese Methode hat den Vorzug einer grösseren Streuung. Die Vermehrung der verschiedenen Krankheitsklassen mit einer bestimmten Ziffer hat zur Folge, dass die am stärksten erkrankten Pflanzen beim Feststellen des Indexes auch einen relativ grösseren Einfluss ausüben.

IV. VERSUCHSERGEBNISSE

1. Morphologische und Physiologische Untersuchungen

a. *Verschiedene Verticillium-Typen und ihre Entwicklung*

Die zahlreich isolierten *Verticillium*-Stämme zeigten untereinander verschiedene Abweichungen. Vor allem die folgenden Typen liessen sich unterscheiden:

1. In einem farblosen Mycel verlaufen frei liegende, dunkel gefärbte Hyphen. Diese bestehen aus einfachen Fäden, deren einzelne Glieder kaum anschwellen. Die Zellwände sind verdickt und braun gefärbt und die einzelnen Zellen enthalten ein körniges Plasma und zahlreiche ölartige Tröpfchen (Abb. 3). Diese Formen werden in dieser Arbeit weiterhin als "dunkler Mycel Typus", abgekürzt als d.M.-Typus bezeichnet.

2. Zwischen den Hyphen zerstreut liegen Mikrosklerotien. Diese entstehen aus einzelnen Zellen der einfachen Hyphen, die anschwellen und sich anschliessend durch Querwände in rundliche Zellen unterteilen. Nach einigen Tagen entstehen hieraus durch seitliche Sprossung breite, kurze Zellen, die wiederum eine kugelige Form annehmen. Auf diese Weise entsteht ein traubenförmiges Körperchen, dessen Zellwände sich vom Zentrum aus verdicken und dunkel färben. Durch die dichte Lagerung der Zellen und die dunkle Farbe der Wände wird das auf diese Weise entstandene Mikrosklerotium undurchsichtig (Abb. 4 und 5). Die Bildung von Mikrosklerotien als Folge einer Anastomose von Konidien konnte nicht beobachtet werden (Wilhelm, 1954b). Die Mikrosklerotien bildenden Formen werden hier als "Mikrosklerotien-Typus", abgekürzt Mskl-Typus bezeichnet.

3. Aus *Chrysanthemum* und aus *Impatiens balsamina* wurde je einmal ein *Verticillium*-Stamm isoliert, in dem im hyalinen Mycel dunkle, dichtgebündelte Hyphen angetroffen wurden. Diese Bündel entstanden aus einfachen Hyphen, die wenig anschwollen und zahlreiche Querwände bildeten. Die gebündelten Hyphen bestanden in der Folge aus Fäden, die aus Reihen gegeneinander liegender, kugeliger Zellen zusammengesetzt waren. Die Zellwände färbten sich dunkel und die Zellen enthielten ein reichliches körniges Plasma (Abb. 6).
Dieses gebündelte Mycel kommt wahrscheinlich mit dem Ruhestadium überein, das durch Reinke und Berthold bei *V. albo-atrum* beschrieben wurde. Von einem dieser Stämme mit gebündelten Hyphen wurden Einsporkulturen hergestellt; in diesen traten die gebündelten Hyphen wiederum auf. Merkwürdigerweise gingen diese nach einiger Zeit zur wiederholten Bildung von einzelligen Sprossen über und zerfielen in grössere oder kleinere Stücke. In diesem Stadium waren sie von den von Klebahn (1913) beschriebenen Mikrosklerotien nicht mehr zu unterscheiden. Aus dieser Tatsache kann geschlossen werden, dass Reinke und Berthold und Klebahn wahrscheinlich ver-

schiedene Entwicklungsstadien ein und desselben Pilzes beschrieben haben.

4. An den farblosen Hyphen entstehen dunkle Chlamydosporen. Derartige Formen werden zum "Chlamydosporen-Typus", abgekürzt Chl-Typus gerechnet.

5. Die Kulturen bestehen nur aus farblosen Hyphen.

In allen Fällen wurden Konidienträger und Konidien gebildet. Von 70 untersuchten Stämmen, die von aus den Niederlanden stammenden Pflanzen isoliert worden waren, gehörten 66 zum Mskl-Typus, 3 zum d.M.-Typus und einer zum Chl-Typus. Keine dieser Wildkulturen bestand ausschliesslich aus farblosen Hyphen. Dagegen wurden beim Weiterzüchten verschiedener zum Mskl- und d.M.-Typus gehörender Stämme Einsporkulturen erhalten, die einerseits vollkommen farblos waren, anderseits mehr oder weniger zahlreiche Mikrosklerotien oder ein dunkles Mycel bildeten.

Auch die drei durch Isaac (1949, 1953c) isolierten Chl-Typen, die sich in den Sammlungen des "Centraal Bureau voor Schimmelcultures" befinden, wurden im Laufe dieser Untersuchungen auf ihre Pathogenität gegenüber *Impatiens balsamina*, *Antirrhinum majus* und *Fraxinus excelsior* geprüft. Die Resultate waren jedoch negativ. Bei den infizierten Pflanzen traten keine Symptome auf und der Pilz konnte aus diesen auch nicht reisoliert werden. Die gleichzeitig gebrauchten Stämme vom Mskl- und d.M.-Typus No. 1 und 19 verursachten dagegen auf den drei Pflanzenarten eine Welkekrankheit.

b. *Sporenmessungen und Entwicklung der Konidienträger*

Vorerst wurden von den in Tabelle 2 genannten *Verticillium*-Stämmen Einsporkulturen hergestellt. Von jeder Herkunft wurden 100 Sporen einer 14 Tage alten Einsporkultur gemessen. Fünf der untersuchten Kulturen gehörten dem d.M.-Typus und zwölf dem Mskl-Typus an. Die mittleren Fehler bei den Breiten- und Längen-Messungen stimmen bei den 17 Einsporkulturen stark miteinander überein und betragen bzw. 0.44 und 0.97. Der Streuungs-Koeffizient beträgt dann 19 bzw. 21 %. Die Wahrscheinlichkeit, um einen wesentlichen Unterschied von 10 % (im Prozenten vom Mittel der beiden Kulturen) zwischen zwei Einsporkulturen als gesichert (auf dem Niveau 0.05) nachzuweisen, beträgt ungefähr 90 %, wenn der Variations-Koeffizient 20 % beträgt.

Die berechnete F-Zahl beträgt für die fünf zum d.M.-Typus gehörenden *Verticillium*-Stämme für die Länge der Sporen 12.4 und für die Breite 19. Für die zwölf zum Mskl-Typus gehörenden Stämme ist diese Zahl 19.1 und 83.2. Alle diese Werte sind sehr gut gesichert. Die Variations-Analysen zeigen, dass die Einsporkulturen in der Sporen-Grösse sich voneinander auch innerhalb der beiden *Verticillium*-Typen unterscheiden. Um nachzugehen, welche Einsporkulturen in der Länge und Breite der Sporen wirklich verschieden sind, wurde mit den "Studentized range" im Sinne von Keuls (1952) gearbeitet. *Die erhaltenen Resultate zeigten, dass die gesicherten Unter-*

TABELLE 2

Sporen-Grösse von 16 verschiedenen Einsporkulturen

Verticillium-Stämme No.	*Verticillium*-Stämme Isoliert aus	Typus	Mittlere Grösse 100 Messungen	B/L		Grenz-Werte
1	*Solanum lycopersicum*	d.M.	2.55 × 5.09 μ	0.50		1.87–3.75 × 3.37– 7.87 μ
2	*Solanum lycopersicum*	„	2.74 × 5.85 μ	0.47		1.50–5.25 × 3.37–10.65 μ
3	*Antirrhinum majus*	„	2.21 × 4.94 μ	0.45	a	1.60–3.20 × 3.20– 7.68 μ
4	*Humulus lupulus*	„	2.42 × 5.20 μ	0.46		1.92–3.20 × 3.52– 7.04 μ
5	*Fragaria* spec.	„	2.34 × 5.74 μ	0.41		1.60–4.48 × 3.84– 9.28 μ
6	*Aster chinensis*	Mskl	1.85 × 4.10 μ	0.45		1.55–3.41 × 2.94– 8.51 μ
7	*Helichrysum bract.*	„	2.09 × 4.22 μ	0.49		1.55–4.34 × 3.10– 6.20 μ
8	*Antirrhinum majus*	„	1.98 × 4.26 μ	0.46		1.55–3.10 × 2.94– 9.28 μ
9	*Antirrhinum majus*	„	2.07 × 4.02 μ	0.51		1.55–3.10 × 2.79– 7.75 μ
10	*Chynandropsis* spec.	„	2.23 × 4.12 μ	0.54		1.50–3.60 × 3.00– 7.12 μ
11	*Phlox decussata*	„	2.15 × 4.48 μ	0.48	b	1.42–3.75 × 3.00– 8.25 μ
12	*Antirrhinum majus*	„	2.20 × 4.21 μ	0.52		1.50–3.60 × 3.00– 6.75 μ
13	*Alstroemeria aurant.*	„	2.18 × 4.28 μ	0.51		1.50–3.00 × 2.40– 6.75 μ
14	*Antirrhinum majus*	„	2.12 × 4.43 μ	0.48		1.50–3.37 × 3.00– 8.70 μ
15	*Gerbera jamesoni*	„	2.14 × 4.27 μ	0.50		1.50–3.75 × 3.00– 6.75 μ
16	*Humulus lupulus*	„	2.08 × 4.32 μ	0.48		1.50–3.00 × 3.00– 6.90 μ
17	*Gossypium* spec.	„	3.42 × 5.85 μ	0.58		1.92–4.80 × 3.84–10.88 μ

d.M. = dunkler Mycel Typus;
Mskl = Mikrosklerotien-Typus;
B/L = Breite/Länge.

schiede zwischen den Längen und Breiten der Konidien der verschiedenen Einsporkulturen nicht mit dem Vorhandensein von Mikrosklerotien oder von dunklem Mycel korrelieren.

In der Grösse und Form der Konidien lassen sich daher die beiden Typen nicht unterscheiden. Auch das Verhältnis der Breite zur Länge der Sporen (*a* = 0.458, b = 0.492) liefert hier keine verwertbaren Unterschiede. Teilen wir die Stämme nach der Sporengrösse in verschiedene Klassen ein, dann erhalten wir das in Abb. 7 wiedergegebene Bild. Bei den zum Mskl-Typus gehörenden Stämmen variieren die Sporen in der Breite meistens zwischen 1.5–2.5 und in der Länge zwischen 3.0–5.5 μ; für den d.M.-Typus betragen diese Werte 1.5–3.5 und 3.5–6.5 μ. Auch hier bestehen in der Variations-Länge und -Breite nur geringe Unterschiede. Die zum d.M.-Typus gehörenden Stämme zeigen in der Sporen-Grösse eine grössere Streuung als die zum Mskl-Typus gehörenden. Auffallend ist, dass die für die Sporenlängen berechneten Kurven sowohl bei den zum d.M.-Typus wie den zum Mskl-Typus gehörenden Stämmen zwei Kulminationspunkte haben. Diese Erscheinung trat nicht nur nach der Summierung der Werte der verschiedenen Stämme auf, sondern wurde auch bei 14 von 16 Stämmen einzeln wahrgenommen.

Bei den folgenden Stämmen wurde mit Hilfe der von Vernon (1931) beschreibenen Methode die Bildung der Konidienträger beobachtet: Zwei Mskl-Typen, isoliert aus *Solanum tuberosum* (No. 21) und *Solanum lycopersicum* (No. 19) und zwei Typen mit dunklem

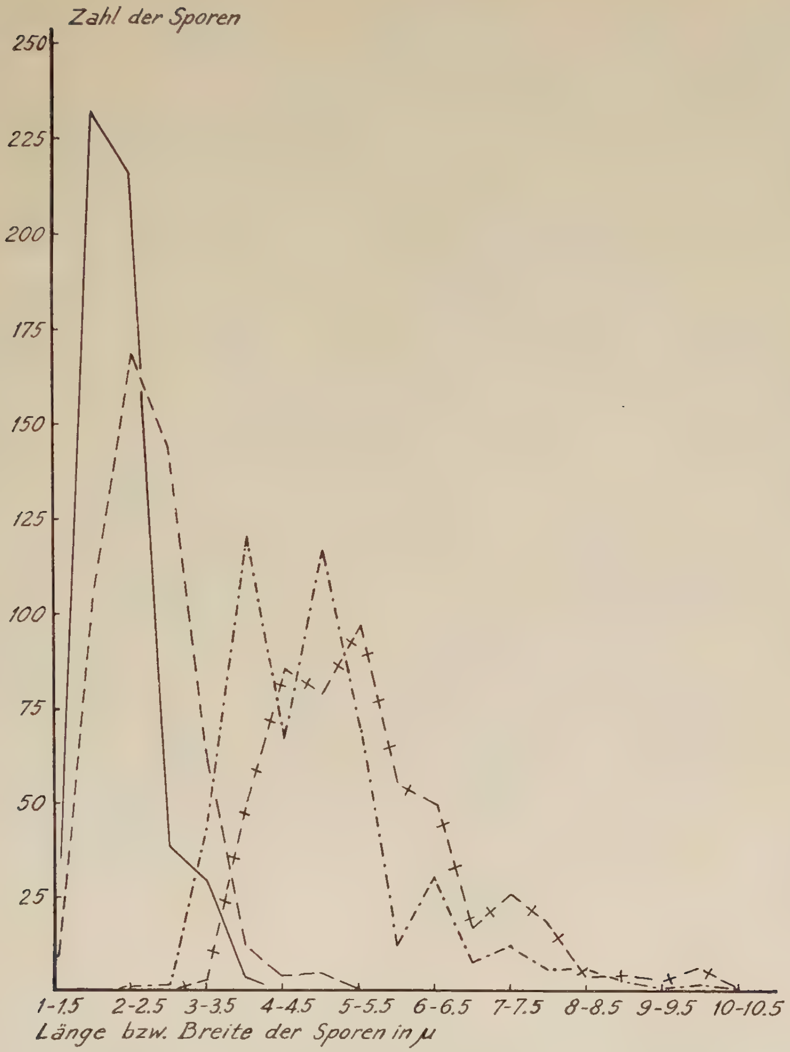


Abb. 7. Längen- und Breitenkurven der Konidien der beiden *Verticillium*-Typen, bestimmt aus je 100 Messungen von je 5 verschiedenen Stämmen.
——————— = Breitenkurve der zum Mskl-Typus gehörenden Stämme;
.—. .—. = Längenkurve der zum Mskl-Typus gehörenden Stämme;
— — — — = Breitenkurve der zum d.M.-Typus gehörenden Stämme;
+ — + — = Längenkurve der zum d.M.-Typus gehörenden Stämme.

Mycel, isoliert aus *Solanum tuberosum* (No. 18) und *Fragaria* spec. (No. 5). Bereits nach 48 Stunden wurden die ersten Konidien gebildet; bei einem Stamm mit dunklem Mycel zwar nur in geringem Masse. In allen Kulturen variierte die Länge der Konidienträger sehr stark. Besonders an Stellen, wo das Mycel eine grosse Dichte hatte, waren sie lang. Bei den vier untersuchten Stämmen konnten in der Farbe

und der Länge der Konidienträger keine Unterschiede gefunden werden.

c. *Physiologische Untersuchungen*

Nun lässt sich jedoch die Frage aufwerfen, ob sich die beiden Typen auf Grund physiologischer Merkmale unterscheiden lassen. Weichen sie zum Beispiel in ihrer Pathogenität oder in ihrer Temperaturempfindlichkeit voneinander ab und muss dies in der Namengebung berücksichtigt werden, z.B. durch die Unterscheidung von bestimmten Rassen, "Formae", innerhalb der Art.

Um den Einfluss der Ernährung auf das Wachstum und die Form der Mycelrasen zu untersuchen, wurden fünf Stämme mit dunklem Mycel und fünf Stämme mit Mikrosklerotien, je vier mal auf Kartoffelstückchen, Maismehlagar und Malzgelatine geimpft. Die auf den zwei erstgenannten Nährböden heranwachsenden Kulturen wurden bei 23° C bewahrt; diejenigen auf Malzgelatine bei einer Temperatur von 15° C. Nach 5 und nach 16 Tagen wurden die Kulturen miteinander verglichen. Auf den Kartoffelstückchen konnten innerhalb der zehn Stämme keine Unterschiede im Wachstum wahrgenommen werden. Beide Typen entwickelten ein emporstrebendes Luftmycel und Hyphen, die sich häutchenförmig flach über den Nährboden ausbreiteten. Auch die Kulturen auf Malzgelatine zeigten untereinander praktisch kein Unterschiede. Nur bei den auf Maismehlagar heranwachsenden Kulturen bildeten vier der fünf Mskl-Stämme ein reichliches Luftmycel, während vier der fünf Stämme mit dunklem Mycel sich flach über den Agar ausbreiteten. Bei beiden Typen verhielt sich jedoch einer der Stämme gerade umgekehrt.

Nach Van der Veen (1930) sollen die Typen mit Mikrosklerotien auf Richard's Nährlösung nur an der Oberfläche wachsen, während diejenigen mit dunklem Mycel sich auch in der Flüssigkeit entwickeln sollen. Aber auch dieser Unterschied liess sich nicht bestätigen: elf untersuchte Mskl-Stämme entwickelten sich ausser an der Oberfläche auch im Inneren der Nährlösung.

Für die Mycelausbreitung (Wachstumsschnellheit) in vitro werden für die beiden *Verticillium*-Typen in der Literatur oft verschiedene Minimum-, Optimum- und Maximum-Temperaturen angegeben. Selbst bestimmt wurden diese bei den in Tabelle 3 angeführten Stämmen. In dieser sind die Mittelwerte von 16 Messungen einer acht Tage alten Kultur angegeben. Das Temperatur-Optimum erwies sich bei den hier geprüften Stämmen als für die beiden Typen verschieden. Für die zum Mskl-Typus gehörenden Stämme lag es bei diesem Versuch bei 25° C und für die zum d.M.-Typus gehörenden bei 20° C. Nur der *Verticillium*-Stamm No. 9 I (= Stamm No. 9, nach einer Passage durch *Antirrhinum*) bildete eine Ausnahme, dieser gehörte zum Mskl-Typus und sein Optimum lag bei 20° C. Das Temperatur-Minimum wechselte bei den verschiedenen Stämmen. Die maximale Wachstumstemperatur der zum Mskl-Typus gehörenden Stämme lag etwas höher als diejenige der zum d.M.-Typus gehörenden Stämme. Diese Temperaturen betrugen 30° C bzw. 25° C.

TABELLE 3

Der Einfluss der Temperatur auf das Wachstum von 10 *Verticillium*-Stämmen in vitro

Stamm No.	Typus	Wachstum in mm bei verschiedenen Temperaturen								
		0°	5°	10°	15°	20°	25°	30°	35°	40° C
1	d.M.	0	1.2	3.8	10.3	*11.3*	9.9	0	†	†
5	,,	0	2.0	6.1	12.8	*14.2*	10.1	0	†	†
18	,,	0	1.1	5.0	10.9	*12.8*	8.5	†	†	†
3	,,	0	1.9	5.7	12.2	*15.7*	10.8	†	†	†
19	Mskl	0	0	1.5	3.5	4.2	*6.8*	1.6	†	†
20	,,	0	1.1	3.9	11.3	13.1	*13.7*	5.7	†	†
21	,,	0	0	2.7	7.6	8.4	*10.9*	3.9	†	†
22	,,	0	0	4.7	9.7	13.3	*14.8*	2.7	0	†
9	,,	0	0	4.6	8.4	12.0	*13.2*	3.2	0	†
17	,,	0	1.2	4.1	8.5	11.2	*11.6*	1.3	†	†
9I	,,	0	0	4.1	7.8	*11.2*	9.6	2.0	†	†

† = Mycel abgestorben.

Wie verhält es sich mit der Lebenskraft des Mycels, nachdem das Wachstum unter dem Einfluss hoher Temperaturen gehemmt worden war? Die betreffenden Versuche wurden mit *Verticillium*-Stämmen ausgeführt, die zum d.M.- und zum Mskl-Typus gehörten. Diese wurden auf sterile Lupinestengel in Kulturgläschen und auf Kartoffelagar in Petrischalen geimpft. Nachdem die Pilze auf diesen Nährböden gut angeschlagen waren (nach 12 Tagen), wurden sie in Thermostaten von 25°, 35°, 45° und 60° C gesetzt und dort während ein, zwei oder drei Tagen inkubiert (Tabelle 4). Hierauf wurden die Lupinestengel und ausgestochene Stückchen der Mycelrasen aus den Kartoffelagarschalen übergebracht auf Kirschenagarschalen. Diese wurden im Thermostaten bei 25° C bebrütet. Nach einem Verbleib von einem Tag bei 45° C oder bei 60° C waren alle untersuchten Stämme abgestorben. Nach einer dreitägigen Inkubation bei 35° C waren die zum d.M.-Typus gehörenden Stämme abgestorben,

TABELLE 4

Bestimmung der Absterbungs-Temperaturen

Stamm No.	Typus	Inkubationszeit in Stunden:	Wachstum nach der Inkubation bei:			
			25°	35°	45°	60° C
1	d.M.	24	+	+	—	—
	,,	48	+	+	—	—
	,,	72	+	—	—	—
9	Mskl	24	+	+	—	—
	,,	48	+	+	—	—
	,,	72	+	+	—	—

\+ = Wachstum des Mycels;
— = kein Wachstum des Mycels.

während die Stämme vom Mskl-Typus noch lebten. Dieser Versuch wurde mit denselben Pilzstämmen wiederholt. Diese wurden in Petrischalen auf Kirschenagar geimpft und nach einem 12-tägigen Wachstum bei 25° C während 3, 4, 5 und 6 Tagen in einem Thermostaten von 35° C inkubiert. Es zeigte sich wiederum, dass die zum d.M.-Typus gehörenden Stämme bei 35° C schneller abstarben als

TABELLE 5

Bestimmung der Temperatur-Empfindlichkeit von *Verticillium*

Stamm No.	Typus	Inkubation bei 35° C während:				
		0	3	4	5	6 Tagen
1	d.M.	+	—	—	—	—
5	,,	+	—	—	—	—
9	Mskl	+	+	+	+	+

\+ = Wachstum des Mycels nach verschiedenen Inkubationszeiten;
— = kein Wachstum des Mycels .

TABELLE 6

Wachstumszunahme des Mycels bei 25° C nach einer Inkubation von 0–6 Tagen bei 35° C

Stamm No.	Typus	Altertum der Kultur	Wachstum in mm					
			0	2	3	4	5	6 Tage
1	d.M.	12 Tage	$30\frac{1}{4}$	$30\frac{3}{4}$	s	0	0	0
		23 ,,	$27\frac{1}{4}$	28	25	$18\frac{3}{4}$	0	0
5	,,	12 ,,	30	24	s	0	0	0
		23 ,,	28	$29\frac{3}{4}$	$28\frac{1}{2}$	$26\frac{1}{2}$	0	0
9	Mskl	12 ,,	39	$38\frac{1}{4}$	$38\frac{1}{2}$	$38\frac{3}{4}$	33	$30\frac{3}{4}$
		23 ,,	$33\frac{1}{2}$	$29\frac{1}{2}$	$29\frac{3}{4}$	$32\frac{3}{4}$	24	$19\frac{3}{4}$

s = sehr geringes Wachstum.

diejenigen des Mskl-Typus, die auch nach sechs Tagen noch im Stande waren, sich weiter zu entwickeln (Tabelle 5). Dieser Versuch wurde mit denselben Stämmen nochmals wiederholt, doch nun waren die gebrauchten Kulturen 12 und 23 Tage alt. Diese wurden wiederum während 2, 3, 4, 5 und 6 Tagen bei 35° C gehalten (Tabelle 6). Die Schalen wurden an aufeinander folgenden Tagen in den Thermostaten gesetzt; so konnten alle gleichseitig wieder herausgeholt, übergeimpft und bei 25° C inkubiert werden. Das Wachstum wurde hierauf nach zehn Tagen gemessen. Die Werte wurden aus vier Messungen ermittelt. Auch dieser Versuch zeigt, dass die zum d.M.-Typus gehörenden Stämme höhere Temperaturen schlechter vertragen als die zum Mskl-Typus gehörenden und dass hierbei älteres Mycel weniger empfindlich ist als junges Mycel.

Um die Frage zu beantworten, ob die bei den untersuchten Stämmen für die beiden Typen abweichende Temperatur-Empfind-

TABELLE 7

Wachstumszunahme des Mycels bei 25° C nach einer Inkubation von 0–10 Tagen bei 35° C

Stamm No.	Typus	Isoliert aus:	Wachstum in mm									
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	10 Tage
1	d.M.	*Solanum lycopersicum*	33½	33½	33	32½	31	8	8	†	†	†
5	,,	*Fragaria* spec.	33	32	22½	31	28	†	†	†	†	†
18	,,	*Solanum tuberosum*	33	29	27½	25	†	†	†	†	†	†
19	Mskl	*Solanum lycopersicum*	33	32½	35½	30½	30	11	20½	35½	s	†
20	,,	*Fragaria* spec.	44	41	39½	40	39½	40	40½	39	39½	37
21	,,	*Solanum tuberosum*	35	35	34½	34½	36½	36½	35½	38	37½	†

s = sehr geringes Wachstum;
† = abgestorben.

lichkeit für mehrere Vertreter dieser Typen charakteristisch ist, wurde der oben beschriebene Versuch mit je drei Stämmen der beiden Typen wiederholt. Hierbei betrug die Versuchsdauer 10 Tage. Die verschiedenen *Verticillium*-Stämme wurden so gewählt, dass jeweils ein Mskl-Stamm und ein d.M.-Stamm von derselben Wirtspflanzen-Art isoliert worden waren. Die Resultate sind in Tabelle 7 wiedergegeben. Auch bei diesen Versuchen waren die zum d.M.-Typus gehörenden Stämme für höhere Temperaturen empfindlicher als diejenigen vom Mskl-Typus. Bei 45° C verlief der Absterbe-Prozess schneller, aber auch hier vermochten die zum Mskl-Typus gehören-

TABELLE 8

Wachstumszunahme des Mycels bei 25° C nach einer Inkubation von 0–11 Stunden bei 45° C

Stamm No.	Typus	Isoliert aus:	Wachstum in mm					
			0	1	2	4	6	11 Stunden
1	d.M.	*Solanum lycopersicum*	39½	37	29	†	†	†
5	,,	*Fragaria* spec.	39	37½	34	21½	†	†
18	,,	*Solanum tuberosum*	38½	39	33	s	†	†
19	Mskl	*Solanum lycopersicum*	27½	26½	27½	s	†	†
20	,,	*Fragaria* spec.	47	46	44½	32½	†	†
21	,,	*Solanum tuberosum*	32	34	30½	28½	†	†

s = sehr geringes Wachstum;
† = abgestorben.

den Stämme den hohen Temperaturen besser zu wiederstehen als diejenigen vom d.M.-Typus (Tabelle 8).

Um festzustellen, ob diese in vitro beobachtete Empfindlichkeit in Temperatur für die beiden Typen auch in vivo gilt, wurden Infektionsversuche mit je einem von Kartoffeln isolierten Stamm der beiden Typen auf *Impatiens balsamina* ausgeführt. Die beiden hier gebrauchten Stämme wurden auch bei den oben beschriebenen Versuchen verwendet. Die Infektionsversuche wurden in einem Gewächs-

hause der "Rijks Tuinbouw Consulentschap voor de Bloementeelt" in Aalsmeer ausgeführt. Ungefähr 15 cm hohe Pflanzen wurden am Stengelfuss mit Sporensuspensionen der beide Stämme injiziert. Hierauf blieben die Pflanzen während fünf Tagen im Gewächshause stehen. Dann wurde ein Teil von ihnen in einen mit einer TL-Beleuchtung vorsehenen Thermostaten gesetzt; dieser wurde auf 35° C gebracht. In diesem blieben die Pflanzen während 5 oder 10 Tagen, und wurden hierauf ins Gewächshaus zurückgesetzt. Wie Tabelle 9 zeigt, verwelkten die mit einem Stamm von d.M.-Typus

TABELLE 9

Welke infektierter *Impatiens balsamina*-Pflanzen nach einer Inkubation von 5 oder 10 Tagen bei 35° C; 9 Pflanzen pro Versuchsreihe

Behandlung	Infektiert mit:	Anzahl kranker Pflanzen nach:						
		7	10	20	30	40	50	60 Tagen
20° C	Mskl-Typus	2	9	9	9	9	9	9
35° C, 5T.	,, ,,	0	0	8	9	9	9	9
35° C, 10T.	,, ,,	0	0	0	5	6	9	9
20° C	d.M.-Typus	0	5	9	9	9	9	9
35° C, 5T.	,, ,,	0	0	0	4	6	7	7
35° C, 10T.	,, ,,	0	0	0	0	1	2	3
20° C	Kontrolle	0	0	0	0	0	0	0
35° C, 5T.	,,	0	0	0	0	0	0	0
35° C, 10T.	,,	0	0	0	0	0	0	0

infizierten Pflanzen nach der Temperatur-Behandlung später als die mit einem Mskl-Stamm infizierten. Sechs der neun mit dem d.M.-Stamm infizierten Pflanzen verwelkten nach einer 10-tägigen Temperatur-Behandlung überhaupt nicht mehr; dies im Gegensatz zu den mit dem Mskl-Typus infizierten Pflanzen, die schlussendlich alle verwelkten. Wahrscheinlich überstand ein kleiner Teil des Inokulums des zum Mskl-Typus gehörenden Stammes in den Pflanzen die Temperatur-Behandlung; das überlebende Mycel konnte allmählich wieder zur Entwicklung gelangen und später noch eine Welke auslösen.

Dies deutet darauf hin, dass der d.M.-Typus auch in vivo durch hohe Temperaturen stärker beschädigt wird als der Mskl-Typus. Ferner zeigen diese Versuche, dass die Empfindlichkeit für hohe Temperaturen für die Vertreter beider Typen in vitro grösser ist als in der Pflanze (vgl. Tabelle 7 und 9). Jedenfalls war das Mycel des d.M.-Typus in vitro bereits nach einer Inkubation von fünf Tagen bei 35° C ganz abgestorben und dasjenige des Mskl-Typus nach einem Verbleib von 10 Tagen bei 35° C.

2. Der Lebenszyklus

a. *Das Eindringen des Pilzes in die Wurzeln*

Das Eindringen von *Verticillium* in die Wurzeln wurde bei Lupine-Pflänzchen untersucht, die zu diesem Zwecke in grossen Reagenz-

gläsern auf einer flüssigen Nährlösung gezüchtet wurden. Einige Tage nach der Keimung der Samen wurde dieser eine Sporensuspension des Pilzes zugefügt. Die Versuche wurden mit einem *Verticillium*-Stamm vom Mskl-Typus (No. 9) ausgeführt. Nach 24 Stunden wurden in der Nährlösung auf den Wurzeln gekeimte Sporen beobachtet. Ein Seitenzweig eines Keimschlauches, dessen Spitze angeschwollen war, berührte ein Wurzelhaar. Von diesem geschwollenen Schlauchende aus entwickelte sich eine spitze Hyphe (Abb. 8a). Sobald diese das Wurzelhaar berührte, entstand sowohl in der geschwollenen Hyphenspitze als im Wurzelhaar eine auffallend schnelle Plasma-Strömung. Zwei Tage nach der Infektion waren bereits mehrere Hyphen in die Wurzelhaare eingedrungen (Abb. 8b). Nach drei Tagen wurde ein

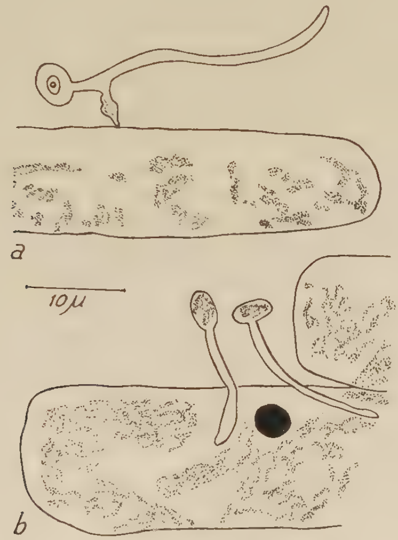


Abb. 8. Das Eindringen von Keimschläuchen in die Wurzelhaare von *Lupinus luteus* a) 24 Stunden b) 48 Stunden nach der Zufügung einer Sporensuspension.

von einer Spore ausgehender Keimschlauch im Wurzelparenchym bereits vier Zellagen tief beobachtet. Dieser war geradewegs durch den Cortex eingedrungen und wuchs gegen das Xylem. In keinem einzigen Fall konnte die Bildung von sogenannten "Lignitubern" beobachtet werden.

Auch das Eindringen von *Verticillium* in die Wurzeln von *Impatiens balsamina* konnte beobachtet werden. Äusserlich desinfizierte Samen wurden in Petrischalen auf Czapek-Agar ausgelegt. Sobald die heranwachsenden Wurzeln eine Länge von ungefähr 2 cm erreicht hatten, wurden sie mit Tröpfchen einer Sporensuspension übergossen. Die so infizierten Wurzeln wurden nach verschiedenen Zeiten in Formalin-Alkohol-Essigsäure (Johansen, 1940) fixiert. Die Sporen hatten nach 24 Stunden Keimschläuche gebildet. Diese waren in die Wurzel-

haube und in Wurzelhaare eingedrungen und am zweiten Tag durchwuchsen sie auch die Kutikula und die Wände der Epidermiszellen. Auch wuchsen sie interzellulär zwischen den Epidermiszellen. Sechs Tage nach der Infektion konnten die ersten Pilzhyphen im Xylem beobachtet werden.

b. *Die Entwicklung und Ausbreitung des Pilzes in der Pflanze*

Um der Entwicklung von *Verticillium* in der Pflanze nachgehen zu können, wurden die Wurzeln von ungefähr 18 cm hohen, in Töpfen gezüchteten Pflanzen von *Impatiens balsamina* sorgfältig in Wasser gespült und in eine Sporensuspension eines zum Mskl-Typus gehörenden Verticillium-Stammes getaucht. Hierauf wurden die Pflanzen wiederum in Blumentöpfen ausgepflanzt. Bereits nach 10–12 Tagen hatte sich der Pilz durch den gesamten Stengel verbreitet und liess sich selbst aus der Spitze reisolieren. Äusserlich traten zu diesem Zeitpunkt an der untersuchten Pflanze noch keine Symptome auf. Als erstes Zeichen der Infektion liess sich einige Tage später eine Verfärbung an einer Seite des durchscheinenden Stengels beobachten; ein an dieser Seite entwickeltes Blatt begann gleichzeitig zu verwelken. Die Verfärbung breitete sich unregelmässig in Form von äusserlich sichtbaren, dunklen Streifen aus; die Welke wurde stärker, bis die Pflanzen völlig abstarben. Bei ihnen entstanden auf den Stengeln braun-schwarze Flecken, die von den dunklen Streifen ausgingen. Diese Flecken waren nicht auf den zentralen Teil des Stengels beschränkt, sondern breiteten sich bis unter die Epidermis aus.

Die dunklen Verfärbungen wurden vor dem Absterben nur von Schwärzungen im Xylem verursacht; der Pilz konnte nur in den Xylem-Gefässen gefunden werden. Als Reaktion trat eine Verfärbung der Xylem-Wände, sowie Thyllenbildung und Absetzung einer gummösen Masse auf (Abb. 9, 10 und 11). Bei den absterbenden Pflanzen zeigten die mikroskopischen Untersuchungen, dass in diesem Stadium neben den Gefässen auch die Zellen des Holzparenchyms volkommen schwarz waren. Der Inhalt bestand aus einer dunklen Substanz. Das Kambium und das Phloem waren teilweise abgebrochen und schwarz verfärbt. Die Hyphen traten nun aus den Gefässen in den Cortex über; gewisse Zellen der Rinde hatten einen gelbbraunen Inhalt. Sobald das Gewebe der Pflanzen vollkommen oder teilweise abgestorben war, wurden Mikrosklerotien angetroffen, die inter- und intrazellulär im Mark, in den Gefässen und in der Rinde gebildet wurden. Mit den absterbenden Pflanzenteilen gelangen diese Mikrosklerotien in den Boden. Bei höherer Feuchtigkeit entwickelten sich auf den abgestorbenen Stengeln auch Konidien, die unter natürlichen Umständen vor allem durch Regenspritzer verbreitet werden.

Die Balsamine war als Versuchspflanze besonders geeignet, da bei den durchscheinenden Stengeln die äusserlich sichtbaren Verfärbungen der infizierten Pflanzen mit den Verfärbungen der Gefässe und des Parenchyms übereinstimmten. So liess sich der Befallsgrad zu jeder Zeit äusserlich wahrnehmen, ohne dass diese beschädigt

werden mussten. Man kann sich nun die Frage stellen, ob die sich unregelmässig fortsetzenden, oft unterbrochenen Gefäss-Verfärbungen durch das sich durch Wachstum ausbreitende Mycel oder durch die in den Gefässen abgeschnürten, mit dem Transpirationsstrom nach oben verfrachteten und erneut gekeimten Konidien verursacht werden.

Unter natürlichen Umständen ist der Transport von Sporen in den Gefässen nur möglich, wenn diese am eingedrungenen Mycel gebildet werden. Bei mikroskopischen Untersuchungen an nicht verwundeten, durch die Wurzeln infizierten Pflanzen wurden tatsächlich einige Male in den Gefässen Konidienträger und Konidien gefunden. Auch Reinke und Berthold (1879) beschrieben und zeichneten Konidienbildung in den Gefässen. Ferner haben Klebahn (1913), Van der Meer (1925), Pethybridge (1916), Rankin (1914) und Van der Lek (1918) in den Gefässen Konidien beobachtet.

Falls in den Gefässen Sporen gebildet werden, dann müssten die nach einer Injektion einer Sporensuspension in den Stengel sich einstellenden Krankheitsbilder mit den nach einer natürlichen Infektion durch die Wurzeln auftretenden Symptomen bis zu einem gewissen Grade übereinstimmen.

Um dies zu untersuchen, wurden Balsaminen (und Eschen) mit Hilfe der Trichtermethode oder mit einer Injektions-Spritze am Stengelfuss (Insertionshöhe 1 cm) infiziert. Bei diesen Infektionsmethoden, bei denen Pilzsporen des Stammes No. 27 in die Gefässe eingeführt wurden, war der Einfluss des Pilzes auf die Pflanzen bereits nach 2–6 Tagen wahrzunehmen. Die Wände der Xylemzellen verfärbten sich, was äusserlich an den durchscheinenden Stengeln in Form von dunklen Streifen sichtbar war. Welke-Symptome traten meistens erst nach 6–10 Tagen auf. Das erste welkende Blatt befand sich hierbei oberhalb der dunkel gefärbten Gefässbündel. Auch hier verlief der weitere Krankheitsverlauf analog dem oben beschriebenen. Als ein Nachteil dieser Methode wurde die unumgängliche Verwundung der Gefässe und deren Folgen unterfunden.

Um den Transport der Sporen in den Gefässen zu untersuchen, wurden Balsamine-Pflänzchen am Stengelfuss mit schwarzer Tusche oder mit durch Eosin rot gefärbten *Verticillium*sporen injiziert. Die durch die Tusche verursachte Verfärbung breitete sich schnell in den Gefässen aus und die Tusche-Teilchen konnten in der Pflanze auf allen Höhen zurückgefunden werden. Die gefärbten *Verticillium*-sporen wurden mit Hilfe der Trichtermethode in die Pflanze eingeführt. Bereits eine Stunde später konnten sie 15 cm oberhalb der Einführungsstelle zurückgefunden werden. Der passive Transport von Sporen in den Gefässen ist dadurch bewiesen. Dies liess sich auch bei einer Wiederholung des Versuches mit lebenden Sporen bestätigen (Tabelle 10). Der Pilz konnte zu verschiedenen Zeiten nach der Infektion wieder reisoliert werden. Bereits nach einer halben Stunde wurde er 10–18 cm oberhalb der Einführungsstelle zurückgefunden. Bei *Fraxinus excelsior* wurde der Pilz 24 Stunden nach der Einführung selbst 145 cm oberhalb der Infektionsstelle angetroffen. Zwischen dieser und der vom Pilz erreichten Höhe fanden sich in

TABELLE 10

Abstand von der Infektionsstelle mit gelungener Reisolierung in cm nach Injizierung einer *Verticillium*-Sporensuspension in den Stengelfuss von Balsaminen

Infektionsmethoden	Zeitpunkt nach dem Infektionsversuch in Stunden (h) oder Tagen (t)											
	½h	3h	21h	27h	2t	3t	4t	6t	8t	10t	13t	15t
Trichter-Inf.	10	14	12	36	54	50	32[1])	56[1])	56[1])	50[1])	48[1])	58[1])
Injektion	18	10	12	8	12	34	32	48	60[1])	60[1])	48[1])	56[1])

[1]) = Spitze ungefähr erreicht.

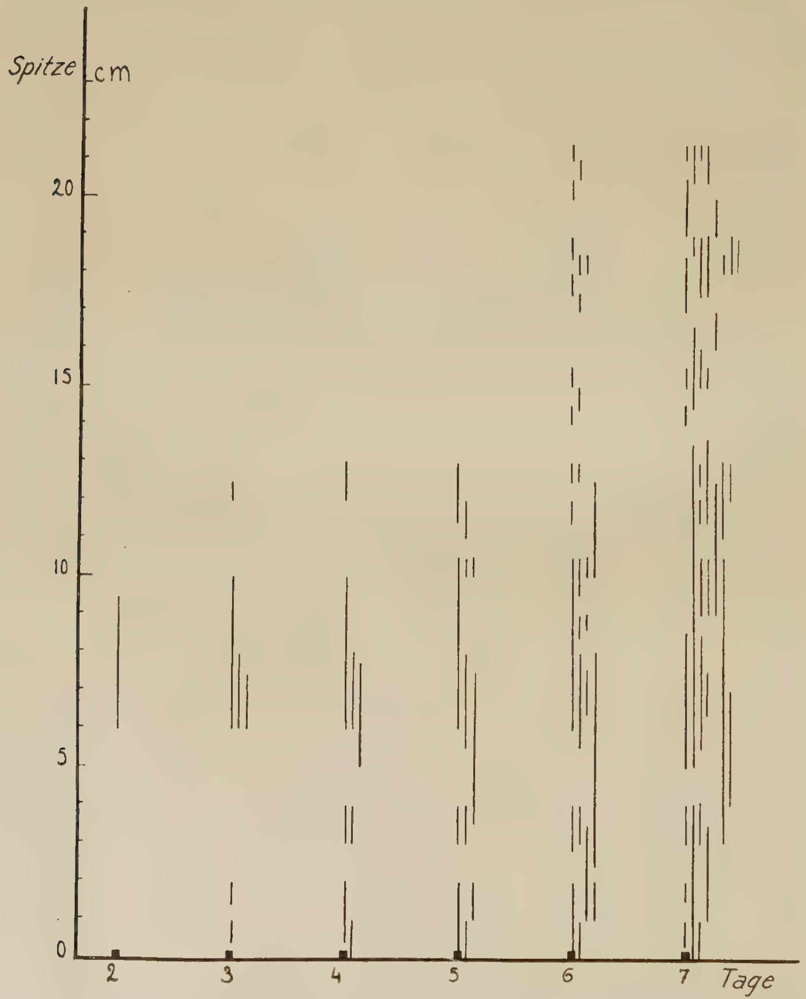


Abb. 12. Die nach einer auf 1 cm Stengelhöhe mit Hilfe der Trichtermethode ausgeführten Infektion bei einer Balsaminen-Pflanze nach verschiedenen Zeiten auftretenden, äusserlich sichtbaren Stengelverfärbungen.

den Gefässen von Balsaminen mehr oder weniger regelmässig verteilt Sporen zurück. Während des Transportes muss also ein Teil der Sporen irgendwo an den Gefässwänden hängen geblieben sein. Bei der Reisolierung entwickelte sich das Mycel aus den auf Agar ausgelegten, ungefähr 1 cm langen Stengelstückchen; wahrscheinlich keimten die in diesen anwesenden Sporen.

Die dunklen Verfärbungen entstehen nicht immer von der Stelle der Infektion aus, sondern oft höher im Pflanzenstengel (Abb. 12). Die mikroskopische Nachprüfung derartiger Pflanzen zeigte, dass die Verfärbung der Gefäss-Wände wie auch die Abscheidung einer gummösen Substanz und die Bildung von Thyllen in den Gefässen auftreten kann, ohne dass an den betreffenden Stellen Hyphen des Pilzes zu finden sind.

Die Ursache der höher auftretenden Verfärbungen muss daher in den nach oben transportierten und dann gekeimten Sporen oder in der Wirkung von durch den Pilz abgeschiedenen Toxinen gesucht werden. In den Gefässen konnten zwar nie keimende Sporen beobachtet werden. Aber die sich nach den am Stengelfuss ausge-

TABELLE 11

Die Verteilung des Mycels und die Gefässbündel-Reaktion im Stengel nach verschiedenen Inkubationszeiten

Infektions-methoden	Tage nach Infektion	Welke-Symptome	Mycel % [1]			Verfärbung und Thyllen % [2]		
			Basis	Mitte	Spitze	Basis	Mitte	Spitze
Trichter	6	0	—	—	+	—	+	—
Injektion	6	0	+	—	—	+	—	—
Trichter	8	0	+	16	—	33	20	20
Injektion	8	0	—	—	—	20	—	—
Trichter	10	I	7	20	—	20	20	20
Injektion	10	I	7	3	?	20	—	—
Trichter	13	II	10	17	13	20	66	66
Injektion	13	I	17	13	7	50	33	33
Trichter	15	III	10	10	25	66	66	90
Injektion	15	II	22	12	11	50	66	66
Trichter	17	III	22	17	25	100	90	100
Injektion	17	III	33	33	25	100	100	100

[1]) Prozentsatz der in Querschnitten mit Mycel gefüllten Gefässe.
[2]) Prozentsatz der in Querschnitten dunkel verfärbten Gefässe.
0 keine Welke.
I Beginn der Welke, ein oder wenige Blättchen mit Turgorverlust.
II Grösserer Teil der Blättchen hängt schlaff oder verdürrt.
III Nur in der Spitze befinden sich noch einige scheinbar gesunde Blättchen.
— Gefässe normal.
\+ sehr wenig Mycel bzw. geringe Verfärbung.
? Beobachtung unsicher.

führten Infektionsversuchen in den Gefässen entwickelnden Mycelien traten zuerst in der Mitte der Stengel deutlich hervor (Tabelle 11).

Wenn die Sporen bereits an der Infektionsstelle gekeimt wären, dann hätten sich die Hyphen von hieraus in den Gefässbündeln nach oben und eventuell auch nach unten ausgebreitet. In diesem Falle

müssten sich die Symptome ebenfalls kontinuierlich von unten nach oben ausbreiten. Eine kurze Zeit nach der Infektion ausgeführte Kontrolle zeigte, dass sich der Pilz nicht ausschliesslich von der Infektionsstelle aus in der Pflanze entwickelt. Die Auffassung, dass die Ausbreitung des Pilzes in der Pflanze nicht durch die von der Infektionsstelle sich ausbreitenden Mycelien stattfinden kann, wird noch durch die Tatsache bestätigt, dass beim Auslegen des gesamten Stengels einer infizierten Pflanze oft gewisse Stückchen gefunden wurden, aus denen der Pilz nicht zu isolieren war, während er wohl aus höher und tiefer gelegenen Teilen des Stengels herauswuchs.

In den Balsaminen-Pflänzchen, die mit Hilfe der Trichtermethode infiziert wurden, befand sich in der Mitte des Stengels mehr Mycel als an der Basis bei der Einführungsstelle. Wenn die Keimung der Sporen ausschliesslich bei der Wunde stattfinden könnte, müssten wir gerade das Gegenteil erwarten. So war z.B. der Unterschied zwischen der Mitte (16) und der Basis (+) bei einer mit der Trichtermethode infizierten Pflanze sehr deutlich (Tabelle 11). Die Ausbreitung der dunklen Streifen während des Krankheitsprozesses verstärkt diese Vermutung ebenfalls. Ferner wurde einige Tage nach dem Entstehen der dunklen Streifen an den betreffenden Stellen oft Mycel gefunden. Diese Beobachtungen zeigen, dass die in den Gefässen hängen gebliebenen Sporen wohl zu keimen vermögen.

Die Resultate der Sporeninjektionen in den Stengel kamen mit denen einer natürlichen Infektion durch die Wurzeln weitgehend überein. *Dies zeigt, dass die Sporen in unverwundeten Gefässen zu keimen vermögen.*

3. Die Bildung von Toxinen

a. *Die Toxizität von Kulturfiltraten*

Die Bildung von toxischen Stoffen wurde u.a. bereits von Bewley (1922), Picado (1923), Fulton (1952), Caroselli (1955) und Kiessig und Hallier–Kiessig (1957) beschrieben. Bei eigenen Versuchen wurden die verschiedenen *Verticillium*-Stämme in ihrer Toxin-Wirkung miteinander verglichen. Die folgenden Einsporkulturen wurden geprüft:

Verticillium	*nubilum*		Chl-Typus	isoliert aus	*Solanum tuberosum*	No.	24
,,	*nigrescens*	I	,,	,, ,,	,, ,,	,,	23a
,,	,,	II	,,	,, ,,	,, ,,	,,	23b
,,	*albo-atrum*		Mskl-Typus	,, ,,	*Antirrhinum majus*	,,	9
,,	,,		,, ,,	,, ,,	*Humulus lupulus*	,,	16
,,	,,		d.M.-Typus	,, ,,	*Solanum lycopersicum*	,,	2

Diese Stämme wurden während acht Tagen in einer Czapek Dox-Nährlösung bei Zimmertemperatur geschüttelt. Dann wurden die Kulturen durch ein G5 Jena-Glasfilter abfiltriert. Abgeschnittene Triebe von *Lupinus luteus* und *Solanum lycopersicum* wurden hierauf in die Filtrate gestellt (Tab. 12 und 13). Alle Kulturfiltrate der hier gebrauchten Stämme übten auf beide Pflanzen eine toxische Wirkung aus. Bei den Trieben von *Lupinus luteus* trat nur eine Welke der Blätter

TABELLE 12

Die unter Einfluss von in vitro erhaltenen Toxinen verwelkten Triebe von *Lupinus luteus* (Zahl der Triebe per Objekt: 4)

Stamm No.	Typus	Welke nach: 5 Tagen Verdünnung: 1	½	¼	6 Tagen Verdünnung: 1	½	¼	7 Tagen Verdünnung: 1	½	¼
24	Chl	3	1	0	4	2	1	4	3	4
23a	,,	3	2	2	4	3	3	4	4	3
23b	,,	3	4	1	4	4	1	4	4	3
9	Mskl	2	2	1	3	3	2	3	3	3
16	,,	0	0	0	2	2	0	2	3	3
2	d.M.	0	0	0	1	3	1	3	4	1
Kontr.	Cz.Dox	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kontr.	Wasser	0			0			0		

TABELLE 13

Die unter Einfluss von in vitro erhaltenen Toxinen verwelkten Triebe von *Solanum lycopersicum* (Zahl der Triebe per Objekt: 4)

Stamm No.	Typus	Symptome nach: 18h Verdünnung: 1	½	24h Verdünnung: 1	½	48h Verdünnung: 1	½	72h Verdünnung: 1	½
24	Chl	4k, 4W	0	4k, 4W	0	4k, 4W	0	4k, 4W	0
23a	,,	4k, 4W	0	4k, 4W	2W	4k, 4W	4W	4k, 4W	4W
23b	,,	1W	0	3W	1W	3W	1W	3W	1W
9	Mskl	4W	2W	4W	3W	4W	4W	4W	4W
16	,,	4k, 4W	2W	4k, 4W	2W	4k, 4W	4W	4k, 4W	4W
2	d.M.	0	0	4W	0	4W	0	4W	0
Kontr.	Cz.Dox	0	0	0	0	0	0	0	0
Kontr.	Wasser	0		0		0		0	

k = kräuseln und umrollen der Blattränder;
W = Welke der Blätter.

auf. Eine Braunverfärbung der Gefässbündel konnte nicht wahrgenommen werden. Die Tomaten-Triebe reagierten viel schneller. Hier zeigten die Blätter meistens zwei voneinander zu unterscheidende Reaktionen, nämlich a) eine Welke und b) ein Aufrollen und Kräuseln der Blätter, vor allem der Blattränder, die dann in den Interkostalfeldern dunkelbraun verfärbten (Abb. 13 und 14). Die Stengel verloren ihren Turgor, was oft ihre totale Erschlaffung zur Folge hatte. Auch entstanden auf ihnen streifenförmige, in der Längsrichtung verlaufende Einsenkungen (Rillen). Auffallend ist, dass die Kulturfiltrate der *Verticillium*-Stämme No. 16, 23a und 24 auf Tomatenblättern die beiden genannten Reaktionen verursachen konnten, während bei den in Kulturfiltrate der *Verticillium*-Stämme No. 2, 9 und 23b, gestellten Tomaten-Trieben nur die Blätter verwelkten. Möglicherweise handelt es sich hier um die Wirkung verschiedenartiger, metabolistischer Produkte (vgl. S. 670). Bereits

Caroselli (1955) fand in Kulturfiltraten von *Verticillium*-Stämmen zwei verschiedene toxische Produkte und Fulton (1952) sprach von einem Komplex verschiedener Verbindungen mit toxischer Wirkung. Nach beiden Autoren verursachen diese Stoffe verschiedenartige Welke-Symptome.

Alle hier untersuchten Stämme bildeten in vitro für Lupine und Tomate toxische Stoffe. Das Mass der Toxizität korrelierte jedoch nicht mit der Virulenz der gebrauchten *Verticillium*-Stämme. Alle zum d.M.- und Mskl-Typus gehörenden Stämme hatten einen ausgesprochen parasitären Charakter, während die gebrauchten Stämme No. 24, 23a und 23b (*V. nubilum* und *V. nigrescens*) keine oder eine nur geringe Pathogenität besassen.

b. *Der Einfluss des Mycelalters auf die Toxizität des Filtrates*

Zwei *Verticillium*-Stämme, die zum d.M.- und Mskl-Typus gehörten, wurden während 1, 2, 3 und 4 Wochen nach der oben beschriebenen Weise gezüchtet und hierauf abfiltriert. Das Filtrat wurde unverdünnt und bei einem ersten Versuch mit Wasser 1:2

TABELLE 14

Die Welke von *Solanum lycopersicum*-Trieben auf verschieden alten Kulturfiltraten

Versuch:	Kulturfiltrat von:		Bestimmung nach	Alter des Kulturfiltrates															
				1 Woche Verd.				2 Wochen Verd.				3 Wochen Verd.				4 Wochen Verd.			
	No.	Typus		0	½	¼	I	0	½	¼	I	0	½	¼	I	0	½	¼	I
1	19	Mskl	30h	4	0	0	–	11	11	0	–	9	3	0	–	12	5	5	–
	19	”	42h	4	4	0	–	12	11	7	–	9	7	6	–	12	9	6	–
	1	d.M.	30h	8	7	6	–	11	9	0	–	7	4	0	–	10	7	4	–
	1	”	42h	10	8	7	–	12	12	8	–	8	6	4	–	12	11	8	–
2	19	Mskl	30h	–	0	–	0	–	9	–	11	–	0	–	3	–	–	–	2
	19	”	42h	–	6	–	4	–	10	–	11	–	5	–	7	–	9	–	10
	1	d.M.	30h	–	4	–	6	–	9	–	9	–	5	–	4	–	9	–	7
	1	”	42h	–	8	–	8	–	12	–	12	–	8	–	6	–	12	–	11

Verd. = Verdünnung.

und 1:4 verdünnt gebraucht; in einem zweiten Versuch wurde ausserdem mit Czapek Dox 1:2 verdünnt. Tomaten-Triebe wurden in Gläschen in je 20 cm³ Kulturfiltrat gestellt (Tab. 14). Bei jeder Verdünnung wurden vier Triebe getestet, die unter Wasser von ungefähr sechs Wochen alten Tomatenpflanzen abgeschnitten wurden. Hierbei handelte es sich um Pflanzen, die aus einem so homogen möglichen Saatgut der Rasse "Potentaat" selektiert worden waren. Bei der Auswertung der Resultate wurden nur die Symptome an den drei obersten Blättern der Triebe berücksichtigt. Die optimale Wirkung der Toxine auf die Blätter wurde mit der Ziffer 12 (4×3) angegeben. Die Czapek Dox-Nährlösung übte während der Versuchsdauer keinen merkbaren Einfluss auf die Blätter aus. Auch wurde kein Unterschied gefunden zwischen der 1:2 Verdünnung mit Czapek Dox-Nährlösung (I) und mit Wasser (½). Die in Kultur-

filtrat gestellten Tomaten-Triebe zeigten gewöhnlich nach 30 Stunden deutliche Symptome. Die Kulturfiltrate der beiden Typen zeigten ungefähr dieselbe Wirkung. Die deutlichsten Welke-Symptome wurden mit Kulturfiltraten von zwei und vier Wochen alten Pilzkulturen erzielt. Gegenüber Filtraten von drei Wochen alten Schüttelkulturen waren die Triebe dagegen weniger empfindlich. Möglicherweise hatte das Mycel im Kulturfiltrat nach zwei Wochen eine optimale Quantität giftiges Toxin gebildet, das dann während des weiteren Wachstums des Pilzes in der Flüssigkeit wieder abnahm. Filtrate von Nährlösungen, in denen der Pilz während vier Wochen gezüchtet worden war, hatten wiederum ein stärkere Toxizität, was möglicherweise an Abbruch-Produkte des Pilzes zugeschrieben werden könnte.

c. *"Replacement" Kulturen*

Um nachzugehen ob vier Wochen alte Mycelien noch im Stande sind Toxine zu bilden, wurden sogenannte "Replacement"-Kulturen eingesetzt. Hierbei wurde der abfiltrierte Mycelrasen gründlich mit Wasser gespült und hierauf in eine frische Czapek Dox-Nährlösung gebracht, die vorher mit derselben Menge Wasser verdünnt worden war. Dies geschah, um die Endkonzentration der gelösten Nährstoffe besser in Uebereinstimmung mit der Endkonzentration der Stoffe in Filtraten der vorangegangenen Versuche zu bringen, auf denen sich die Pilzrasen während längerer Zeit auf Kosten der verschiedenen Nährstoffe entwickelt hatten. Nach 24 Stunden Schütteln bei Zimmertemperatur wurde die Nährlösung wiederum durch Glas-

TABELLE 15

Die toxische Wirkung der Filtrate von "replacement"-Kulturen mit Mycel verschiedenen Alters auf sukkulente Triebe von *Solanum lycopersicum*

Kulturfiltrat von:		Altertum des Mycels in Wochen	Symptome nach:			
No.	Typus		24h	27h	30h	36h
19	Mskl	1	6	7	8	8
	,,	2	12	12	12	12
	,,	3	8	11	12	12
	,,	4	6	8	9	9
1	d.M.	1	5	8	9	9
	,,	2	8	9	10	11
	,,	3	6	6	8	8
	,,	4	3	6	8	8

Indexziffern 0–12 0 = alle Blätter der 4 Triebe gesund;
12 = alle Blätter der 4 Triebe verwelkt (siehe Text).

filter abfiltriert und auf ihre Toxizität gegenüber Tomaten-Trieben geprüft (Tab. 15). Diese Tomaten-Triebe stammten von Tomatenpflanzen, die teilweise im Treibhaus, teilweise im Freien gezüchtet worden waren. Die stärksten Symptome wurden bei Trieben beobachtet, die in Kulturfiltraten standen, in die zwei Wochen alte Mycelien des Mskl-Typus wie auch des d.M.-Typus gebracht worden waren.

Die Triebe der im Freien gezüchteten Tomatenpflanzen waren weniger empfindlich. Dies äusserte sich in einem späteren Auftreten von Symptomen, die erst nach 48 Stunden beobachtet werden konnten. Unterschiede in der toxischen Wirkung waren hier beim Mskl-Typus weniger deutlich als beim d.M.-Typus. Doch liess sich auch hier eine optimale, toxische Wirkung bei Kulturfiltraten beobachten, in die zwei Wochen alte Mycelien gebracht worden waren.

d. *Unterschiede in der toxischen Wirkung von Stämmen und Arten verschiedener Herkunft*

V. nubilum und *V. tricorpus* vermochten nach Isaac (1953a) bei Infektionsversuchen auf Tomaten Symptome zu verursachen, während die infizierten *Antirrhinum*-Pflanzen gesund blieben. Die gleichzeitig gebrauchten Stämme von *V. albo-atrum*, Mskl-Typus und d.M.-Typus, verursachten dagegen auf Tomaten und auf *Antirrhinum* eine Welkekrankheit. Eigene Infektionsversuche mit *V. nubilum* und *V. tricorpus* hatten auf *Antirrhinum* dasselbe Resultat (vgl. S. 681). Da angenommen werden muss, dass die Welke-Symptome ihre Ursache in den vom Pilz abgeschiedenen Toxinen haben, kann man sich die Frage stellen, warum diese bei den Infektionsversuchen mit *V. nubilum* und *V. tricorpus* wohl auf Tomaten, nicht aber auf *Antirrhinum*-Pflanzen auftraten. Oder allgemeiner ausgedrückt: Wie verhält es sich mit der Wirkung der Kulturfiltrate verschiedener *Verticillium*-Stämme auf eine bestimmte Wirtspflanze und wie reagieren anderseits verschiedene Wirtspflanzen auf das Kulturfiltrat eines bestimmten *Verticillium*-Stammes.

TABELLE 16

Die toxische Wirkung von Kulturfiltraten einiger *Verticillium*-Stämme auf abgeschnittene Triebe von *Solanum lycopersicum* und *Antirrhinum majus*

Kulturfiltrat von:			*Solanum lycopersicum*							*Antirrhinum majus*	
			Versuch 1 Symptome nach:				Versuch 2 Symptome nach:			Symptome nach:	
No.	Typus	Herkunft	8h	12h	24h	27h	21h	24h	30h	48h	58h
9	Mskl	*Antirrhinum majus*	0	0	7	12	1	2	12	16.7	21.7
19	,,	*Solanum lycopersicum*	3	8	12	12	2	8	12	83.3	83.3
44	Chl	*Solanum lycopersicum*	0	0	4	7	0	2	8	0	0
24	,,	*Solanum tuberosum*	2	12	12	12	1	3	10	50.0	50.0
Kontrolle			0	0	0	0	0	0	0	0	0

Um dies untersuchen zu können, wurden die in Tabelle 16 genannten Arten und Stämme auf ihr Vermögen, Toxine zu bilden, getestet. Als Indikatorpflanzen dienten Triebe von *Antirrhinum majus* und *Solanum lycopersicum*. Bestimmt wurde die durch die Kulturfiltrate verursachte Welke. Um die Toxizität des Kulturfiltrates anzugeben, wurde vor allem das Umrollen, Kräuseln und Welken der Tomatenblätter berücksichtigt, wie dies bereits bei den oben erwähnten Versuchen beschrieben wurde. Wie bei dem in Tabelle 14 wieder-

gegebenen Versuch wurden auch hier jeweils vier Triebe verwendet, bei welchen je die Abweichungen an den drei obersten Blättern bestimmt wurden. Die maximale Wirkung wird daher auch hier mit den Ziffer 12 angegeben. Der Versuch mit Tomaten-Trieben wurde zweimal ausgeführt, während derjenige mit *Antirrhinum* in achtfältiger Wiederholung eingesetzt wurde. (Bestimmung des Indexes, siehe Seite 679). Bei allen Versuchen wurde eine bestimmte Menge des bei 0° C bewahrten Kulturfiltrates verwendet. Bei Versuch I beforderte das warme Wetter die Transpiration; in der Folge traten die Symptome schneller auf.

TABELLE 17

Die toxische Wirkung von Kulturfiltraten einiger *Verticillium*-Stämme auf abgeschnittene Triebe von *Solanum lycopersicum*, *Mentha piperita* und *Impatiens balsamina*

Kulturfiltrat von:			*Solanum lycopersicum* Symptome nach: 24h				*Mentha piperita* Symptome nach: 48h				*Impatiens balsamina* Symptome nach: 72h			
No.	Typus	Herkunft	I	II	III	total	I	II	III	total	I	II	III	total
9	Mskl	*Antirrhinum majus*	3	2	4	9	4	7	7	18	12	12	16	40
25	,,	*Impatiens balsamina*	5	3	6	14	9	8	7	24	16	20	11	47
19	,,	*Solanum lycopersicum*	8	9	6	*23*	10	12	12	*34*	16	22	20	*58*
21	,,	*Solanum tuberosum*	8	7	7	*22*	13	10	10	*33*	18	24	17	*59*
22	,,	*Mentha piperita*	**12**	9	**10**	**31**	**14**	**13**	**16**	**43**	**20**	24	**24**	**68**
Kontrolle			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

I, II und III drei nacheinander folgende Einzelversuche.

Bei einer zweiten Versuchsreihe wurden *Verticillium*-Stämme anderer Herkunft gebraucht (Tabelle 17). Als Indikatorpflanzen dienten neben *S. lycopersicum* auch *Mentha piperita* und *Impatiens balsamina*. Die Triebe von *I. balsamina* stammten von ungefähr sechs Wochen alten Pflanzen. Bestimmt wurden die Symptome an den sechs obersten Blättern. Von *M. piperita* wurden ungefähr 12 cm hohe Triebe gebraucht. Hier wurden die Symptome an den vier obersten Blattpaaren bestimmt. Die Symptome bei den Tomaten-Trieben wurden nach der bei Tabelle 12 angegebenen Weise gemessen. Diese Triebe stammten von soweit möglichst homogenen und unter gleichen Bedingungen gezüchteten Pflanzen. Die Bestimmungen erfolgten jeweils nach 12 Stunden. Dieser Versuch wurde vierfach ausgeführt und dreimal wiederholt. Die Triebe von *S. lycopersicum* waren nach 24, diejenigen von *M. piperita* nach 48 und diejenigen von *I. balsamina* nach 72 Stunden verwelkt. Die zur Kontrolle auf Wasser und auf Czapek Dox-Nährlösung gesetzten Triebe zeigten nach diesen Zeiten keinerlei Symptome.

Bei allen untersuchten Stämmen schied das Mycel toxisch wirkende Stoffe ab. Das Kulturfiltrat bestimmter Stämme verursachte jedoch eine stärkere Welke der Triebe als dasjenige anderer Stämme. So gaben die aus *Antirrhinum*- bzw. einer Tomatenpflanze isolierten Stämme No. 9 und 19 in zwei Versuchsreihen auf Tomaten (Tabelle

16 und 17) ein übereinstimmendes Resultat: Die toxische Wirkung des Kulturfiltrates war jeweils beim Stamm No. 19 auffallend stärker als beim Stamm No. 9. Das Kulturfiltrat von *V. nigrescens* (No. 24) übte auf Tomaten eine starke toxische Wirkung aus, dasjenige von *V. tricorpus* dagegen (No. 44) nur eine schwache. Die Kulturfiltrate der *Verticillium*-Stämme No. 21 und 22 übten auf Tomaten ebenfalls eine toxische Wirkung aus. Gleichwertige Reaktionen wurden mit den Kulturfiltraten aller hier genannten Stämme auch auf Trieben von *Mentha piperita* und *Impatiens balsamina* erhalten. Nur war die Empfindlichkeit dieser Pflanzen für die von einem bestimmten *Verticillium*-Stamm erhaltenen Kulturfiltrate verschieden. Die Tomaten waren jeweils am empfindlichsten, während bei *Antirrhinum* und bei *Impatiens* die Reaktionen erst nach einer längeren Wirkungsdauer auftraten.

Besteht eine Beziehung zwischen der Toxizität der Kulturfiltrate und der Pathogenität der hier gebrauchten Stämme? Die *Verticillium*-Stämme No. 9, 19 und 21 stimmten in der Pathogenität gegenüber *Impatiens balsamina* gut miteinander überein (Tab. 19). Die Kulturfiltrate des *Verticillium*-Stammes No. 9 hatten jedoch eine viel schwächere, toxische Wirkung auf abgeschnittene Balsaminen-Triebe als diejenigen der Stämme No. 19 und 21. Ferner ist der aus Tomaten isolierte *Verticillium*-Stamm No. 19 für diese Pflanze viel pathogener als der aus Kartoffel isolierte Stamm No. 21. In der toxischen Wirkung des Kulturfiltrates auf Tomaten-Triebe stimmten sie jedoch völlig miteinander überein. Auch war der *Verticillium*-Stamm No. 9 für *Antirrhinum* pathogen, *V. nubilum* (No. 24) dagegen nicht. Die toxische Wirkung des Kulturfiltrates von *V. nubilum* war jedoch viel stärker als diejenige des von Stamm No. 9 erhaltenen Filtrates. *Bei den verschiedenen Stämmen bestehen daher keine Wechselbeziehungen zwischen der Toxinbildung in vitro und der Pathogenität.*

Dass *V. nubilum* trotz der Bildung von toxischen Stoffen für *Antirrhinum* nicht pathogen ist, lässt sich dadurch erklären, dass der Pilz nicht oder nur schwierig in die Pflanze einzudringen vermag (Isaac, 1953a). Ähnlich verhält es sich beim Vergleich der beiden Stämme No. 19 und 21. Bei einer Reisolierung aus infizierten Tomatenpflanzen zeigte es sich nähmlich, dass der pathogene Stamm No. 19 in der Pflanze regelmässig verbreitet vorkam (S. 706), während der schwächer pathogene Stamm No. 21 nur sporadisch angetroffen werden konnte. Dieser vermochte sich also in der Pflanze nur schwach auszubreiten und allem Anscheine nach blieb deshalb auch die toxische Wirkung beschränkt. Um wirklich pathogen zu sein, muss ein *Verticillium*-Stamm ausser der Fähigkeit, Toxine zu bilden auch andere Eigenschaften besitzen, vor allen muss er in die Wurzeln eindringen und sich in den Gefässbündeln entwickeln können. Es lässt sich nicht sagen, warum Stamm No. 21 im Gegensatz zu Stamm No. 19 dazu nicht imstande war.

Anderseits verursachte der Stamm No. 19 bei *Solanum nigrum* und *Chrysanthemum leucanthemum* keine Symptome, konnte aber aus den Stengeln dieser Pflanzen bis auf grosse Höhe reisoliert werden

(Seite 728). In diesem Falle kann der Pilz leicht in die Pflanze eindringen. Vielleicht vermag er aber in dieser keine Toxine zu bilden oder diese werden gebildet, aber können auf die Pflanze keine schädigende Wirkung ausüben.

Die hier dargestellten Resultate kommen mit denjenigen von TALBOYS (1957) überein, der mit *Humulus lupulus* arbeitete und fand, dass die Intensität der durch die Toxine hervorgerufenen Symptome nicht mit der Pathogenität des betreffenden *Verticillium*-Stammes korrelierte.

e. *Vergleich der Symptome, wie sie durch Toxine und durch den in den Pflanzen anwesenden Pilz verursacht werden*

Auf das Filtrat einer 14 Tage alten Kultur des aus *Fraxinus excelsior* isolierten, zum Mskl-Typus gehörenden Stammes No. 27 wurden Balsaminen-Triebe gesetzt. Um eine Verstopfung der Gefässe zu verhindern, wurde der unterste Teil der Triebe jeweils nach 24 Stunden abgeschnitten. In ihnen entstanden dunkle Streifen, die durch eine Verfärbung der Gefässwände des Xylems verursacht wurden. Ebenfalls konnten gummöse Abscheidungen und die Bildung von Thyllen beobachtet werden (Abb. 15 und 16). Auch in den Holzparenchymzellen waren teilweise derartige Abscheidungen vorhanden.

Die durch die im Kulturfiltrat anwesenden Toxine verursachten Symptome kamen also mit denjenigen überein, welche bei den mit dem Pilz infizierten Pflanzen auftraten (vgl. S. 690). Im erstgenannten Falle verlief der Prozess jedoch heftiger und schneller. Die Zeit, die der Pilz nach dem Eindringen in die Pflanzen nötig hatte, um bei diesen Welke-Symptome hervorzurufen, kam gut überein mit derjenigen, in der die Toxin-Bildung in vitro optimal war. Diese Zeit betrug ungefähr zwei Wochen (Tab. 15), während bei den an der Stengelbasis mit einer Sporensuspension injizierten Pflanzen nach 15–17 Tagen deutliche Welke-Symptome wahrgenommen werden konnten. Auch die Versuche von PORTER und GREEN (1952) zeigten, dass *V. albo-atrum* mit grosser Wahrscheinlichkeit auch in vivo Toxine bildet. Ob diese Toxine identisch sind mit den in vitro gebildeten, sollte noch näher untersucht werden.

Wie die oben beschriebenen Versuche zeigen, vermögen sowohl zum Mskl- wie zum d.M.-Typus gehörende Stämme Toxine zu bilden und abzuscheiden. Zwischen den morphologischen Eigenschaften dieser Formen und der Giftigkeit des Filtrates konnten keine Wechselbeziehungen gefunden werden. Jeder Stamm scheint seine spezifische Toxizität zu besitzen. Auch besteht keine Korrelation zwischen der Virulenz der verschiedenen Typen und der Giftigkeit der von ihnen in die Kulturfiltrate abgeschiedenen Toxine. Wahrscheinlich hängt die Pathogenität eines bestimmten Stammes weitgehend vom Eindringungsvermögen (Agressivität), sowie von den Ausbreitung in der Pflanze und deren Reaktion ab. So sind *V. nubilum* und *V. tricorpus* praktisch nicht im Stande, sich Zugang in die lebende Pflanze zu verschaffen (ISAAC, 1953a).

4. Die Pathogenität von Verticillium-Stämmen

Bei den in der Literatur zahlreich beschriebenen Infektionsversuchen wurde öfters ein verschiedenartiges Pflanzenmaterial mit verschiedenen *Verticillium*-Stämmen infiziert. Meistens erwies sich ein Teil der untersuchten Pflanzen als resistent. Auf Grund der Versuche wurden Reihen von für den Pilz empfindlichen Pflanzen aufgestellt. Die verschiedenen Wirtspflanzenreihen wichen je nach der Zahl und Art des gebrauchten Materials voneinander ab und man kann sagen, dass praktisch jeder Autor für seine untersuchten Stämme ein eigenes Wirtspflanzen-Spektrum gefunden hat. Eine weitere Erklärung der abweichenden Resultate kann in Faktoren gefunden werden, die bei den verschiedenen Untersuchungen nicht identisch waren: a) Die getesteten *Verticillium*-Stämme, b) die Infektionsmethoden, c) der Einfluss von äusseren Umständen, d) Herkunft, Alter und Varietät des gebrauchten Pflanzenmaterials. Der Herkunft und Zugehörigkeit der gebrauchten *Verticillium*-Stämme kann oft noch nachgegangen werden, den anderen Faktoren jedoch meistens nicht mehr.

Eine andere Ursache der verschiedenen Resultate kann in einer Spezialisierung der verschiedenen *Verticillium*-Stämme liegen. In diesem Falle würden gewisse Stämme für eine bestimmte Wirtspflanze pathogen sein, für eine andere dagegen nicht. Ferner besteht die Möglichkeit, dass wir aus einer Wildform nach einigen Passagen durch eine bestimmte Wirtspflanze einen an diese angeglichenen und auf sie spezialisierten Stamm erhalten können.

Bei eigenen Untersuchungen wurden erstens die bei einer bestimmten Wirtspflanzen-Art nach Infektionen mit *Verticillium*-Stämmen verschiedener Herkunft und Art hervorgerufenen Reaktionen miteinander verglichen. Zweitens wurde bei zwei für einen bestimmten Wirt pathogenen Stämmen ein möglicher Einfluss verschiedener, nacheinanderfolgender Passagen durch diesen Wirt auf die Pathogenität untersucht.

a. *Die Anwendung verschiedener Infektionsmethoden*

Bevor diese Untersuchungen ausgeführt werden konnten, wurden erst sechs verschiedene Infektionsmethoden auf ihre Tauglichkeit geprüft. Vor dem Auspflanzen in Blumentöpfen wurden je 10 Pflanzen nach den folgenden Methoden infiziert:

1. Die Wurzeln wurden ohne Verwundung in eine Sporensuspension getaucht.
2. Die Wurzeln wurden verwundet und in eine Sporensuspension getaucht.
3. Eine 7 Tage alte Schüttelkultur des Pilzes wurde mit der Erde vermengt.
4. Eine in Petrischalen auf steriler Erde vermehrte Pilzkultur wurde der sterilisierten Erde zugefügt.
5. Ausgestanzte Agarstückchen mit Mycel des Pilzes wurden auf eine am Stengelfuss angebrachte Wunde gelegt.
6. Eine Sporensuspension des Pilzes wurde in den Stengel injiziert.

Die Kontrolle-Pflanzen wurden gleich behandelt, jedoch ohne Zufügung des Pilzes. Als Versuchspflanzen dienten Balsaminen und als Pathogen wurde der von *Antirrhinum* isolierte, zum Mskl-Typus gehörender Stamm No. 9 gebraucht.

TABELLE 18

Welke-Symptome und Wachstumshemmung bei nach verschiedenen Methoden infizierten Pflanzen von *Impatiens balsamina*

Infektionsmethode	Datum der Infektion	Grad der Welke am:		Mittlere Höhe der Pflanzen in cm am 19-6-55
		19-6-55	30-7-55	
Tauchen in Sporensuspension	25-5-55	10/10[1]	10/10	6.5
Tauchen und Verwunden	,,	8/9	8/9	5.2
Schüttelkultur	,,	1/10	1/10	13.7
Kultur in steriler Erde	,,	1/10	5/10	14.7
Agarstücke mit Mycel	5-6-55	0/10	5/10	14.1
Injektion einer Sporensuspension	,,	8/10	8/10	9.8
Kontrolle		0/12	0/12	15.6

[1] Der Zähler gibt die Zahl der erkrankten, der Nenner die Zahl der infizierten Pflanzen an.

Die Erde war während einer Stunde bei einem Ueberdruck von 1 Atmosphäre sterilisiert worden. Es zeigte sich, dass ein direkter Kontakt zwischen Pilz und Pflanze die besten und schnellsten Resultate lieferte (Tab. 18). Die grösste Zahl welke-kranker Pflanzen wurde nach Eintauchen der Wurzeln in eine oder nach Injektion der Stengel mit einer Sporensuspension erhalten. Auch eine Hemmung im Längen-Wachstum der Pflanzen trat nach der Anwendung dieser Infektionsmethoden am deutlichsten auf. Deshalb wurden bei den weiteren Versuchen vor allem diese Methoden angewandt. In einigen Fällen wurden auch Pflanzen in mit *Verticillium* verseuchten Böden gezüchtet. Der Pilz konnte in diesem Falle längs seines natürlichen Weges und unter natürlichen Umständen in die Pflanzen eindringen.

b. *Infektionsversuche auf Impatiens balsamina*

Lassen sich nach einer Infektion von einer Wirtspflanzen-Art mit *Verticillium*-Stämmen verschiedener Herkunft auf dieser verschiedene Befallsgrade unterscheiden?

In einem Versuch wurden die Wurzeln junger Balsamine-Pflanzen in Sporensuspensionen getaucht. Hierauf wurden die Pflanzen in Kistchen mit Gartenerde gepflanzt. Bei diesem Versuch wurden elf zum Mskl-Typus und fünf zum d.M.-Typus gehörende *Verticillium*-Stämme gebraucht (Tab. 19). Mit jedem Stamm wurden elf Pflänzchen durch Tauchen der Wurzeln in eine Sporensuspension infiziert. Nach einem Monat waren alle Pflänzchen, die mit einem dieser 16 Stämme infiziert worden waren für 90–100 % krank. Zwischen den Stämmen der beiden Typen konnten keine Unterschiede in der Pathogenität gefunden werden. Beim Eintauchen der Wurzeln in eine Sporensuspension besteht die Möglichkeit einer Verwundung; hierdurch könnte das Eindringen des Pilzes in die Wurzeln erleichtert werden.

TABELLE 19

Prozentsatz der aus Saat aufgekommenen und befallenen Balsaminen nach einer Infektion mit verschiedenen *Verticillium*-Stämmen

No.	*Verticillium*-Stämme: Isoliert aus	Typ.	Gesät in verseuchter Erde: Anzahl Pflanzen in % ausgedrückt: Versuch 1 gekeimt[1])	krank[2])	Versuch 2 gekeimt[1])	krank[2])	Infiziert durch Tauchen der Wurzeln in Sporensuspension: Zahl der Pflanzen	krank in % nach einem Monat
21	*Solanum tuberosum*	Mskl	56	29	84	10	11	91
19	*Solanum lycopersicum*	,,	92	9	88	5	11	100
20	*Fragaria* spec.	,,	88	9	92	13	11	100
18	*Solanum tuberosum*	d.M.	80	15	80	0	11	100
2	*Solanum lycopersicum*	,,	60	40	100	12	11	91
5	*Fragaria* spec.	,,	84	10	72	11	11	91
	Kontrolle		92	0	88	0	11	0
26	*Chrysanthemum max.*	Mskl	–	–	–	–	11	100
27	*Fraxinus excelsior*	,,	–	–	–	–	11	100
28	*Ulmus hollandica*	,,	–	–	–	–	11	91
29	*Beta vulgaris*	,,	–	–	–	–	11	100
9	*Antirrhinum majus*	,,	–	–	–	–	11	100
16	*Humulus lupulus*	,,	–	–	–	–	11	100
30	*Medicago sativa* Gr.	d.M.	–	–	–	–	11	100
31	*Medicago sativa* Zl.	,,	–	–	–	–	15	80
32	*Cichorium intybus*	Mskl	–	–	–	–	11	91
33	*Linum usitatissimum*	,,	–	–	–	–	11	100

1) Prozentsatz der gesteckten Samenkörner.
2) Prozentsatz der aufgekommenen Pflanzen.

Darum wurden in erst sterilisierte und hierauf mit Reinkulturen von *Verticillium* verseuchte Gartenerde je 25 Samen von *I. balsamina*, Varietät "Camelliabloemige Scharlaken", ausgelegt. Von den 6 verwendeten *Verticillium*-Stämmen gehörten drei zum Mskl- und drei zum d.M.-Typus (Tab. 19). Bei diesem Versuch liessen sich die Vertreter der beiden Typen in ihrer Pathogenität nicht unterscheiden. Der Prozentsatz der erkrankten Pflanzen wechselte stark bei ein und demselben Stamm wie auch bei einem Vergleich der verschiedenen Stämme. Eine Erklärung hierfür könnte darin liegen, dass das Inokulum nur teilweise zu den Wurzeln gelangen konnte.

c. *Infektionsversuche auf Fraxinus excelsior*

Um *Verticillium*-Stämme verschiedener Herkunft miteinander vergleichen zu können, wurde als zweite Versuchspflanze *Fraxinus excelsior* verwendet (Tab. 20). Auf diesem in seinem anatomischen Bau von Kräutern so verschiedenen Baum wurden vor allem von Kräutern isolierte *Verticillium*-Stämme getestet. Wenn diese in ihrer Pathogenität an gewissen Pflanzen angeglichen wären, dann müssten wir dies sicher bei Infektionsversuchen auf sehr abweichenden Pflanzenarten feststellen können.

Eschen wurden insgesamt mit 17 *Verticillium*-Stämmen infiziert; bei drei von diesen wurde mit insgesamt zehn Einsporkulturen gearbeitet.

TABELLE 20

Prozentsatz der befallenen Bäume von *Fraxinus excelsior* "Doorenbos V" nach Infektionsversuchen mit *Verticillium*-Stämmen verschiedener Herkunft

Verticillium-Stämme				Prozentsatz der erkrankten Bäume		
No.	Isoliert aus	Typus	Ort der Herkunft	Infektion des Bodens am: 1.4.1955	Wundinfektion am: 1.6.1955	Wundinfektion am: 8.6.1956
27	*Fraxinus excelsior*	Mskl	Wageningen	30	100	–
34	*Rhus typhina*	,,	Baarn	70	100	–
35	*Acer campestris*	,,	Wageningen	70	100	–
28	*Ulmus hollandica*	,,	'sHeer Arendskerke	40	100	–
18	*Solanum tuberosum*	d.M.	Baarn	0	100	–
21	*Solanum tuberosum*	Mskl	England	30	100	–
9	*Antirrhinum majus*	,,	Baarn	50	100	–
3	*Antirrhinum majus*	d.M.	England	50	100	100
19	*Solanum lycopersicum*					–
	e_1	Mskl	Naaldwijk	30	100	100
	e_2			40	100	100
1	*Solanum lycopersicum*					
	e_1	d.M.	Berlicum	60	100	–
	e_2			0	100	–
16	*Humulus lupulus*	Mskl	England	20	100	–
4	*Humulus lupulus*	d.M.	England	20	100	100
20	*Fragaria* spec.	Mskl	Kennemerland	50	100	–
5	*Fragaria* spec.	d.M.	England	20	100	–
	Kontrolle			0	0	0
36	*Ribes rubrum*	Mskl	Naaldwijk	–	–	100
37	*Solanum lycopersicum*					
	e_1, e_2, e_3, e_4, e_5	Mskl	Alkmaar	–	–	100
2	*Solanum lycopersicum*	d.M.	England	–	–	100
26	*Chrysanthemum* e_1, e_2	Mskl	Naaldwijk	–	–	100
29	*Beta vulgaris*	,,	Zeeland	–	–	100
38	*Beta vulgaris*	,,	Oldambt	–	–	100
41	*Atropa belladonna*	,,		–	–	100
40	*Chrysanthemum*	,,	Aalsmeer	–	–	100
22	*Mentha piperita*	,,	U.S.A.	–	–	100

e = Einsporkultur.

Zehn *Verticillium*-Stämme waren aus verschiedenen Pflanzen aus den Niederlanden isoliert, sechs stammten aus England und einer aus Amerika. Bei *F. excelsior* handelte es sich um die Varietät "Doorenbos V", und zwar um dreijährige Pfropfungen auf zweijährigen Unterstämmen von Eschen-Saatpflanzen. Infiziert wurde durch Schnittwunden auf 30 cm Höhe und zwar mit Mycel auf ausgestanzten Agarstückchen. Mit jedem *Verticillium*-Stamm wurden fünf Bäume infiziert, von denen alle krank wurden.

Mit 16 Stämmen wurde versucht, je 10 Eschen vom Boden aus zu infizieren. Beiderseits der Bäume dicht beim Stamm wurde ein 10 cm tiefes Grübchen gegraben, in das 100 von *Verticillium* durchwucherte Weizenkörner gebracht wurden. Ferner wurde der Erde unter den Bäumen je eine sieben Tage alte Schüttelkultur (125 cm^3) des Pilzes zugefügt. Diese Bodeninfektionen wurden am 1. April 1955 ausgeführt. Regelmässig wurde die Erde den Baumreihen

entlang gehäufelt, wodurch eine oberflächliche Bewurzelung gefördert wurde. Bei der am 13. Juni ausgeführten Kontrolle variierte der Befall der Bäume bei den verschiedenen *Verticillium*-Stämmen stark, selbst so, dass bei zwei Einsporkulturen derselben Isolierung der Befall bei der einem 0 bei der anderen 60 % betrug (Tab. 20). Bei 15 von den 16 gebrauchten *Verticillium*-Stämmen wurden 2–7 Bäume krank. *Diese Versuche zeigen deutlich, dass die von Kräutern isolierten Stämme auch für Eschenbäume virulent sein können.*

d. *Kreuzweise Infektionsversuche*

Endlich wurden mit *Verticillium*-Stämmen, die von *Fraxinus excelsior*, *Ulmus hollandica*, *Solanum lycopersicum* und *S. tuberosum* isoliert worden waren kreuzweise Infektionsversuche ausgeführt (Tab. 21). Bei den hierbei gebrauchten Pflanzen handelte es sich um Ulmensämlinge und um junge Eschen der Varietät "Doorenbos V". Von beiden

TABELLE 21

Kreuzweise Infektionsversuche auf *Fraxinus excelsior*, *Ulmus* spec., *Solanum lycopersicum* und *Solanum tuberosum*

Verticillium-Stamm		Infektion von:				
No.	Isoliert aus	*Fraxinus excelsior*	*Ulmus* spec.	*Solanum lycopersicum* 1956	*Solanum lycopersicum* 1957	*Solanum tuberosum*
	Zahl der Pflanzen	5 × 5	5 × 5	5 × 6	5 × 6	5 × 7
27	*Fraxinus excelsior*	+[1] **4**[2]	+[1] 2[2]	+[1] 1[3]	+[1] 1[4]	+[1] 2375[5]
28	*Ulmus hollandica*	+ 5	+ **3**	+ 2	+ 2	+ 2905
19	*Solanum lycopersicum*	+ 5	+ 2	+ **26**	+ **5**	+ 3640
21	*Solanum tuberosum*	+ 4	+ 2	+ 1	+ 1	+ **175**
	Kontrolle	— 0	— 0	— 0	— 0	— 9910

[1]) Krankheitssymptome wahrgenommen.
[2]) Zahl der positiven Reisolierungen aus 5 Pflanzen.
[3]) Zahl der positiven Reisolierungen aus 54 Blattstielen.
[4]) Zahl der positiven Reisolierungen aus 6 Stengeln.
[5]) Ertrag an Knollen von 7 Pflanzen in Grammen.

Arten wurden je fünf Pflanzen mit ihren Wurzeln in Sporensuspensionen der genannten *Verticillium*-Stämme getaucht. Zehn Kartoffelknollen der Rasse "Eigenheimer" und sechs junge Tomatenpflänzchen der Varietät "Potentaat" wurden in verseuchte Erde gesetzt. Diese Versuche wurden im Freien ausgeführt. *Alle vier Verticillium-Stämme verursachten bei allen vier Versuchspflanzen Symptome.* Auf der Esche entstanden vorerst auf den Blättern nekrotische Flecken, hierauf knickte der Blattstiel und endlich verwelkten die Blätter und fielen ab. Im Holz trat eine Gummose und eine dunkle Verfärbung der Gefässwände auf. Bei der Ulme traten im Beginn keine typischen Symptome auf; später blieben die befallenen Bäumchen verglichen mit den Kontrollen kleiner und die Blätter hatten eine hellere Farbe. Die befallenen Kartoffelpflanzen zeigten ebenfalls eine Wachtstumshemmung und verwelkten endlich. Ferner lag bei den

infizierten Kartoffeln der Ertrag viel tiefer als bei den Kontrollepflanzen. Die infizierten Tomatenpflanzen blieben vorerst in Wachstum stark zurück; ferner verwelkten einige Blätter. Nach zwei Monaten war der Unterschied in der Länge bei den verschiedenen Gruppen weniger deutlich und betrug noch ungefähr 10 cm.

Der Pilz konnte aus den Eschen, Ulmen und Kartoffelpflanzen reisoliert werden. Bei den Tomatenpflanzen gelang dies jedoch weniger gut. Deshalb wurde wöchentlich von jeder Gruppe je eine Tomatenpflanze auf das in ihr stattgefundene Wachstum des Pilzes untersucht. Nach einer äusserlichen Desinfizierung wurden die Stengel in Stücke von 20 cm Länge geschnitten. Hieraus wurden 10 auf regelmässigen Abständen gelegene Scheibchen auf Agarböden ausgelegt. Zwei Monate nach der Ausführung des Infektionsversuches wurde mit der Reisolierung begonnen. Aus fünf von sechs Tomatenpflanzen, die mit dem von Tomaten isolierten *Verticillium*-Stamm infiziert worden waren, gelang es, den Pilz aus den Stengeln aus einer Höhe zwischen 20–60 cm zu reisolieren. Aus sechs mit dem von *U. hollandica* isolierten *Verticillium*-Stamm infizierten Tomatenpflanzen konnte der Pilz nur zweimal reisoliert werden und zwar aus dem Stengel auf einer Höhe von 20 und 30 cm. Aus je sechs mit den aus *Fraxinus* und aus Kartoffeln isolierten *Verticillium*-Stämmen infizierten Tomaten konnte der Pilz jeweils nur einmal reisoliert werden und zwar aus den Stengeln auf einer Höhe von 20 und 60 cm.

Da die anfänglich erhaltenen Resultate keine Spezialisierung andeuteten, was auch mit den bei früheren Versuchen erhaltenen Ergebnissen übereinstimmte (vgl. Tab. 20), war das Resultat bei der Untersuchung der infizierten Tomaten einigermassen überraschend. Der ursprünglich von Tomaten isolierte *Verticillium*-Stamm hatte sich in dieser Pflanze stärker ausgebreitet als die von anderen Pflanzenarten isolierten Stämme. Während des folgenden Sommers wurde der Versuch wiederholt, gelang aber unter Einfluss der schlechten Witterungsverhältnisse nur soweit es die Tomate betrifft (Tab. 21, *S. lycopersicum* 1956). Der gesamte Versuch wurde endlich im Sommer 1957 zum dritten mal ausgeführt (Tab. 21). An Stelle der Kartoffelknollen wurden junge bewurzelte Kartoffelpflänzchen verwendet, die wie auch die Tomatenpflänzchen mit ihren Wurzeln in Sporensuspensionen der verschiedenen *Verticillium*-Stämme getaucht wurden. Auch bei diesem Versuch konnten die verwendeten *Verticillium*-Stämme aus den befallenen Eschen, Ulmen und Kartoffeln reisoliert werden. Der Befall der letzteren war in gewissen Fällen so stark, dass die Pflanzen bereits vor der Entwicklung der Knollen abstarben. Vor allem bei den mit dem von Kartoffeln isolierten *Verticillium*-Stamm infizierten Kartoffeln war der Ertrag stark reduziert. Bei den infizierten Tomatenpflanzen wurde bei den Reisolierungen auch nun wieder der ursprünglich aus Tomaten isolierte Stamm am meisten angetroffen.

Die Resultate der Versuche weisen darauf hin, dass auch bei *Verticillium* eine gewisse Spezialisierung vorkommen kann und zwar bei unseren Infektionsversuchen vor allem auf Tomaten. Während andere

Verticillium-Stämme auf dieser Pflanze nur gelegentlich in den Stengeln zurückgefunden werden konnten, liess sich der ursprünglich von Tomaten isolierte Stamm regelmässig aus der ganzen Pflanze reisolieren. Bei den Kartoffeln, die mit dem von einer Kartoffel isolierten *Verticillium*-Stamm infiziert worden waren, war wohl der Ertrag am geringsten, aber die ursprünglich aus anderen Pflanzen isolierten *Verticillium*-Stämme konnten ebenso leicht aus den Kartoffelstengeln reisoliert werden.

TABELLE 22

Reaktion von *Solanum lycopersicum* auf die Infektion mit *Verticillium*-Stämmen verschiedener Herkunft

Verticillium-Stamm		Mittlere Höhe von 10 Pflanzen	Zahl der gelungenen Reisolierungen, ausgeführt aus verschiedener Höhe bei je 10 Stengeln		
No.	Isoliert aus	in cm	0–14 cm	14–28 cm	28–42 cm
37	*Solanum lycopersicum*	73	6	7	6
36	*Ribes rubrum*	73	0	1	0
38	*Beta vulgaris*	72	1	0	1
	Kontrolle	83	0	0	0

Nochmals wurden Infektionsversuche auf Tomaten ausgeführt und zwar diesmal mit drei anderen *Verticillium*-Stämmen, die aus *Ribes* (No. 36), aus Tomaten (No. 37) und aus *Beta vulgaris* Varietät Hilleshög (No. 38) isoliert worden waren. Tomatenpflänzchen im Zwei- oder Dreiblatt-Stadium wurden mit ihren Wurzeln in Sporensuspensionen dieser Pilze getaucht und hierauf in Blumentöpfen mit Gartenerde gepflanzt und ins Treibhaus bei 23° C gesetzt. Verglichen mit der Kontrolle blieben die infizierten Pflanzen im Wachstum zurück (Tabelle 22); bei den mit dem von Tomaten isolierten Stamm infizierten verwelkten ferner die untersten Blätter. Bei den mit den beiden anderen Stämmen infizierten Pflanzen trat eine derartige Welke nur sporadisch auf. Reisolierungen wurden nach der oben beschriebenen Arbeitsweise ausgeführt. Diesmal wurden jedoch 14 cm lange Stengelstücke verwendet. Positive, aus den verschiedenen Stengelstücken erhaltene Reisolierungen waren bei den mit dem von Tomaten isolierten *Verticillium*-Stamm infizierten Pflanzen weitaus am grössten (Tabelle 22). Die beiden anderen Stämme konnten nur vereinzelt reisoliert werden.

Auch in diesem Falle verhielt sich der von Tomaten isolierte *Verticillium*-Stamm anders als die von anderen Pflanzen isolierten Stämme.

Ferner wurden Infektionsversuche mit *Verticillium*-Stämmen ausgeführt, die von Kartoffeln, Zuckerrüben, Spinat und Luzerne isoliert worden waren. Im Sommer 1955 wurden diese Versuche auf Zuckerrübe, Flachs und Spinat und im Sommer 1957 ferner noch auf Luzerne und Kartoffel ausgeführt (Tabelle 23). Die Pflänzchen wurden, nachdem sie eine Länge von 5–10 cm erreicht hatten, mit ihren Wurzeln in Sporensuspensionen der oben erwähnten Pilze getaucht und hierauf im Freien ausgepflanzt. Die bei Zuckerrübe und Spinat auf-

TABELLE 23

Kreuzweise Infektionsversuche auf *Solanum tuberosum*, *Beta vulgaris*, *Spinacia oleracea*, *Medicago sativa* und *Linum usitatissimum*

Verticillium-Stamm		Infektion von:										
No.	Isoliert aus	*Solanum tuberosum*			*Beta vulgaris*		*Spinacia oleracea*		*Medicago sativa*		*Linum usitat.*	
	Zahl der Pflanzen	10			10		20		30		30	
21	*Solanum tuberosum*	+[1]	5[2]	474[3]	+	2[4]	+	3[5]	+	2[6]	+	3[5]
29	*Beta vulgaris*	+	4	570	+	4	+	3	+	1	+	3
43	*Spinacia oleracea*	+	4	929	+	4	+	3	+	3	+	3
30	*Medicago sativa*	+	3	811	+	0	+	3	+	3	+	3
	Kontrolle	—	0	1214	—	0	—	0	—	0	—	0

[1]) Krankheitssymptome wahrgenommen.
[2]) Zahl der positiven Reisolierungen aus 6 Stengeln.
[3]) Mittlerer Ertrag an Knollen pro Pflanze in Grammen.
[4]) Zahl der positiven Reisolierungen aus 6 Blattstielen.
[5]) Zahl der positiven Reisolierungen aus 3 Pflanzen.
[6]) Zahl der positiven Reisolierungen aus 6 Pflanzen.

tretenden Symptome waren ähnlich. Auf den Blättern entstanden gelbgrüne Flecken, später waren die Blätter teilweise asymmetrisch durch das Absterben einer Blatthälfte, die über einem verfärbten Teil des Blattstieles lag. Verglichen mit der Kontrolle waren die sich an den infizierten Pflanzen noch entwickelnden Blätter viel schmäler, oft bandförmig. In den Wurzeln der Zuckerrübe konnten gelegentlich verfärbte Gefässbündel beobachtet werden; bei diesen Pflanzen entstanden in den Rüben dunkle, konzentrische Ringe. Bei Luzerne konnte vor allem ein Zurückbleiben im Wuchs konstatiert werden, ferner eine Welke der Blättchen, Blattstiele, Stengel und endlich der gesamten Pflanze. Diese Symptome wurden bereits von Hallier und Kiessig (1957) ausführlich beschrieben. Bei unserem Versuch waren *Verticillium*-Stämme verschiedener Herkunft im Stande die verwendeten Pflanzenarten zu befallen. Der Ertragsausfall der Kartoffelpflanzen, die mit einem von Kartoffeln isolierten *Verticillium*-Stamm infiziert worden waren lag höher als bei den mit anderen *Verticillium*-Stämmen infizierten Kartoffeln. Der Unterschied war jedoch weniger auffallend als bei dem oben erwähnten Versuch (Tabelle 21). Obwohl auf allen infizierten Zuckerrüben Symptome auftraten, gelang eine Reisolierung des ursprünglich von Luzerne isolierten Stammes nicht, was wahrscheinlich einer Zufälligkeit zugeschrieben werden muss. Die drei anderen Stämme konnten aus der Zuckerrübe reisoliert werden. Eine Reisolierung aller vier Stämme gelang aus Spinat, Luzerne und Flachs. Bei diesem Versuch wichen die vier verwendeten *Verticillium*-Stämme in ihrer Pathogenität kaum voneinander ab.

Die hier beschriebenen Infektionsversuche (Tab. 19, 20, 21, 22 und 23) zeigen, dass die 28 getesteten, von 18 verschiedenartigen Wirtspflanzen verschiedenster Herkunft isolierten *Verticillium*-Stämme, ausser der Pflanze, von der sie isoliert worden waren, auch andere Pflanzenarten befallen können. Sie sind in ihrem Parasitismus also

nicht an ihre ursprüngliche Wirtspflanze gebunden. Wohl verhielten sich die verschiedenen Stämme abweichend gegenüber der Tomate. Die von dieser Pflanze selbst isolierten *Verticillium*-Stämme vermochten Tomaten in einem viel stärkeren Masse zu besiedeln als die aus anderen Pflanzen isolierten Stämme.

Die bei den oben beschriebenen Infektionsversuchen erhaltenen Resultate weisen auf eine Spezialisierung der aus Tomaten isolierten *Verticillium*-Stämme. Wie kommt diese nun zu Stande? Möglicherweise haben bei der Infektion von Tomatenpflanzen nur Sporen oder Hyphen, die am besten an diese Wirtspflanze angeglichen sind die Möglichkeit in diese einzudringen und sich in ihr zu verbreiten. Auf diese Weise könnten auf Tomaten spezialisierte Stämme entstehen. Ein derartiger Stamm, der aus Tomaten isoliert werden kann, müsste dann gegenüber dieser Pflanze stärker pathogen sein als gegenüber einem anderen Wirt. Demgegenüber müsste ein aus einer anderen Wirtspflanze isolierter Stamm weniger gut an die Tomaten angeglichen sein.

e. *Der Passage-Effekt*

Um nachzugehen ob eine derartige Spezialisierung besteht, muss man einen auf Tomaten spezialisierten *Verticillium*-Stamm hinsichtlich seiner Pathogenität mit einem *Verticillium*-Stamm anderer Herkunft auf Tomaten vergleichen und umgekehrt.

Als Versuchspflanzen wurden *S. lycopersicum* Varietät "Potentaat" und *Antirrhinum majus* Varietät "maximum rose" gebraucht. Um mit nach Möglichkeit homogenem Material arbeiten zu können, wurde bei diesen Versuchen eine Einsporkultur eines aus Tomaten isolierten *Verticillium*-Stammes verwendet. Diese Kultur war bei Infektionsversuchen auf Tomaten sehr pathogen.

Das Inokulum wurde auf sterilisierten Lupine-Stengeln vermehrt; nachdem der Pilz diese durchwuchert hatte, wurden sie in den Boden gebracht. So sollte der Pilz auf natürliche Weise in die Pflanze eindringen können. Um die Temperatur des Bodens konstant zu halten, wurden die Versuche in Wisconsin-Tanks bei 23° C ausgeführt. Nach 8–10 Wochen wurde der Pilz aus den Pflanzen reisoliert und für neue Infektionsversuche verwendet.

Mit dem ursprünglich von Tomaten isolierten *Verticillium*-Stamm wurden auf dieser Pflanze drei Passagen ausgeführt. Es zeigte sich, dass dieser Stamm bei jeder Passage die Tomaten für 100 % befiel (Abb. 17). Wurde mit diesem Stamm jedoch dreimal nacheinander *Antirrhinum* infiziert, dann betrug die Zahl der erkrankten Pflanzen bzw. 28, 18 und 28 %. Als nach zwei Passagen durch *Antirrhinum* der Pilz wieder auf Tomaten gebracht wurde, erkrankten diese wiederum für 100 %. Die Eigenschaften des Stammes veränderten sich also während diesen Passagen nicht. Er war und blieb stark pathogen für Tomaten und mässig für *Antirrhinum*.

Mit einer Einsporkultur eines aus *Antirrhinum* isolierten *Verticillium*-Stammes wurden auf dieser Pflanze drei Passagen ausgeführt, wobei bzw. 55 %, 45 % und 55 % krank wurden. Wurden mit diesem

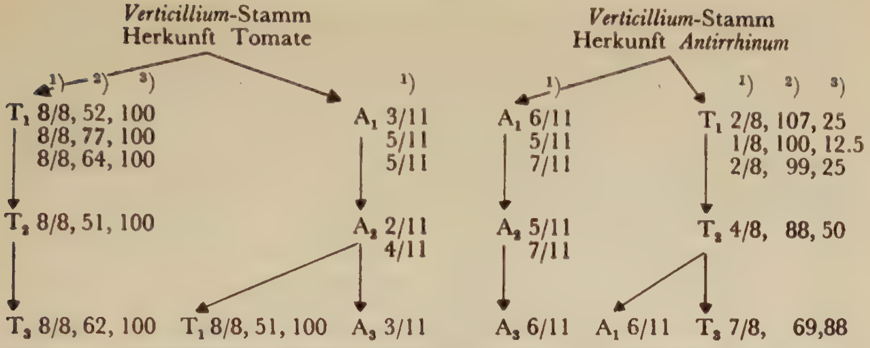


Abb. 17. Der Effekt von Passagen durch Tomaten und *Antirrhinum* auf zwei aus diesen Pflanzen isolierte *Verticillium*-Stämme. T_1, T_2, T_3: Passagen durch Tomaten; A_1, A_2, A_3: Passagen durch *Antirrhinum*. [1]) Zähler: Zahl der Pflanzen, aus denen *Verticillium* reisoliert werden konnte. Nenner: Zahl der infizierten Pflanzen. [2]) Prozentsatz der mittleren Länge von 8 Pflanzen, verglichen mit der Kontrolle. [3]) Prozentsatz der erkrankten Pflanzen.

Stamm jedoch dreimal nacheinander Tomaten infiziert dann stieg der Prozentsatz an erkrankten Pflanzen und betrug bzw. 25, 50 und 87 %. Hier nahm also der Befall mit jeder Passage zu. Wurde nun dieser von *Antirrhinum* isolierte Stamm nach zwei Passagen durch Tomaten wieder auf *Antirrhinum* zurückgebracht, dann betrug die Zahl der verwelkten *Antirrhinum*-Pflanzen 55 %. Die Pathogenität gegenüber *Antirrhinum* war also nach zwei Passagen durch Tomaten unverändert geblieben, die Pathogenität gegenüber Tomaten hatte jedoch zugenommen.

Dieser letzte Versuch zeigte wiederum, dass ein aus Tomaten isolierter *Verticillium*-Stamm mehr oder weniger stark an diese Pflanze gebunden sein kann. Der aus *Antirrhinum* isolierte Stamm war bei der ersten Passage auf Tomaten nur wenig pathogen. Bei einer zweiten und dritten Passage konnte jedoch eine Zunahme der Pathogenität konstatiert werden. Es scheint also, dass ein nicht auf Tomaten spezialisierter Stamm nach einigen Passagen durch diese Pflanze einen mehr spezialisierten Charakter erhält. Wie ist dies zu erklären?

Man könnte annehmen, dass in der ursprünglichen Einsporkultur Mutationen auftreten. Nach der Infektion der Tomaten könnte auch eine Selektion von Sporen oder Hyphen mit einem Stoffwechsel stattfinden, der sich an denjenigen der Wirtspflanze angeglichen hat. Ein anfänglich für Tomaten mässig pathogener *Verticillium*-Stamm könnte auf diese Weise nach verschiedenen Passagen stärker pathogen werden. Als Beschwerde gegen diese Auffassung könnte man einbringen, dass zum Beispiel ein aus *Antirrhinum* oder ein aus Tomaten isolierter Stamm, nach wiederholten Passagen durch *Antirrhinum* für diese Pflanze nicht stärker pathogen wird.

f. *Die Abhängigkeit der Pathogenität vom Vorhandensein oder Fehlen von Mikrosklerotien oder dunklem Mycel*

Das letzte Problem, das in diesem Kapitel erörtert werden soll,

behandelt einen Unterschied in der Pathogenität, der nach Bewley (1922), Presley (1941) und Nelson (1950) an das Vorhandensein oder Fehlen von Mikrosklerotien gebunden sein soll. Aus Einsporkulturen von zwei *Verticillium*-Stämmen vom Mskl-Typus (No. 36 und 37), in denen sich jeweils Sektoren mit und ohne Mikrosklerotien entwickelt hatten, wurden Stämme erhalten, von denen der eine zahlreiche, der andere keine Mikrosklerotien bildete. Diese Eigenschaften erwiesen sich im Verlaufe der weiteren Kultur als konstant. Mit diesen Stämmen wurden Infektionsversuche auf Tomaten und Eschen ausgeführt. Von je acht Tomatenpflanzen (Varietät "Potentaat") wurden die Wurzeln in Sporensuspensionen aus Reinkulturen getaucht; das Wurzelsystem von acht Kontrolle-Pflanzen wurde in Wasser getaucht. Die Pflanzen wurden hierauf ausgepflanzt und in Wisconsin-Tanks bei einer Temperatur von 23° C gehalten. Verglichen mit der Kontrolle blieben alle infizierten Tomaten in Wachstum stark zurück (Tab. 24). Alle mit dem Stamm No. 37 und seinem Saltanten infizierten Pflanzen hatten eine ungefähr gleich

TABELLE 24

Das Vermögen, Mikrosklerotien zu bilden und die Pathogenität von verschiedenen *Verticillium*-Kulturen, geprüft auf *Solanum lycopersicum*

Verticillium-Stämme		Herkunft	Zahl der Mikro-sklerotien	Höhe der Tomaten-pflanzen	Reisolie-rung [4])
No.	Isoliert aus				
$36a_1$ [1])	*Ribes rubrum*	Naaldwijk	keine	32.6 cm	+
$36a_2$ [1])	,, ,,	,,	viele	32.2 ,,	+
$37a_1$ [2])	*Solanum lycopersicum*	Alkmaar	keine	18.2 ,,	++
$37a_2$ [2])	,, ,,	,,	viele	18.5 ,,	++
37b [3])	,, ,,	,,	keine	18.6 ,,	++
37c [3])	,, ,,	,,	viele	18.2 ,,	++
	Kontrolle			38.4 ,,	—

[1]) Zwei Sektor-Saltanten einer Einsporkultur vom Stamm No. 36.
[2]) Idem vom Stamm No. 37.
[3]) Zwei Einsporkulturen vom Stamm No. 37.
[4]) — Reisolierung negativ;
\+ Reisolierung vereinzelt gelungen;
++ Reisolierung regelmässig gelungen.

starke Wachstumshemmung; die mit dem Stamm No. 36 und seinem weissen Saltanten infizierten hatten untereinander ebenfalls die gleiche Hemmung, die aber verglichen mit der vorigen Gruppe weniger ausgeprägt war. Nach ungefähr sieben Wochen liess sich aus den Stengeln der mit Einsporkulturen des Stammes No. 37 infizierten Gruppe der Pilz leicht reisolieren, doch nur schwierig aus den mit dem Stamme No. 36 infizierten Pflanzen.

Bei den auf *Fraxinus excelsior* ,,Doorenbos V'' ausgeführten Versuchen wurden ausser den Einsporkulturen und den Saltanten der oben genannten *Verticillium*-Stämme auch einige andere Einsporkulturen mit und ohne Mikrosklerotien verwendet (Tab. 25). Eine Suspension von Mikrosklerotien und Sporen wurde in die Stämme eingespritzt. Mit

TABELLE 25

Das Vermögen Mikrosklerotien oder dunkle Mycelien zu bilden und die Pathogenität von verschiedenen *Verticillium*-Kulturen auf *Fraxinus excelsior*

Verticillium-Stämme		Urspr. Typus	Zahl der Mikrosklerotien oder dunklen Mycelien	Inkubations-Zeit in Tagen	Stärke des Befalls
No.	Isoliert aus				
$36a_1$ [1]	*Ribes rubrum*	Mskl	keine	13	15
$36a_2$	,, ,,	,,	viele	15	14
$37a_1$ [2]	*Solanum lycopersicum*	,,	keine	13	14
$37a_2$	,, ,,	,,	viele	15	14
37b [3]	,, ,,	,,	keine	13	14
37c	,, ,,	,,	viele	15	14
37d	,, ,,	,,	keine	19	14
37e	,, ,,	,,	viele	15	14
19a [3]	,, ,,	,,	keine	13	15
19h	,, ,,	,,	viele	15	15
2a [4]	,, ,,	d.M.	keine	11	15
1a	,, ,,	,,	sehr viele	13	15
42a [3]	*Chrysanthemum* spec.	Mskl	keine	15	9
42b	,, ,,	,,	sehr viele	13	13
3a [4]	*Antirrhinum majus*	d.M.	keine	11	15
4a	*Humulus lupulus*	,,	viele	13	15
29a [4]	*Beta vulgaris*	Mskl	keine	13	10
39a	,, ,,	,,	sehr viele	19	10

[1] Zwei Sektor-Saltanten einer Einsporkultur vom Stamm No. 36.
[2] Idem vom Stamm No. 37.
[3] Einsporkulturen der Stämme 19, 37 und 42.
[4] Einsporkulturen verschiedener Herkunft.

jeder Einsporkultur wurden fünf Bäume infiziert. Die Stärke der Welke der einzelnen Bäume wird ausgedrückt mit den Ziffern 1 (schwache Welke), 2 und 3 (starke Welke). Eine Versuchsreihe von fünf Bäumen mit einem maximalen Befall müsste daher die Ziffer $5 \times 3 = 15$ erhalten. Die Dauer der Inkubationszeit sollte nach gewissen Autoren ein Maßstab für die Pathogenität sein. Bei den Versuchen auf Tomaten konnte dieser nicht gebraucht werden, da sich die Zeit zwischen dem Eintritt des Pilzes in die Wurzeln und dem Beginn der Wachstumshemmung nicht feststellen lässt. Die Zeit zwischen der Sporeninjektion und dem Erscheinen der ersten Welkesymptome lässt sich dagegen bei genügender Kontrolle leicht feststellen. Diese Methode wurde darum bei den Versuchen mit *F. excelsior* verwendet. Die infizierten Eschen wurden jeden zweiten Tag beurteilt. Der Unterschied in der Inkubationszeit zwischen den Bäumen, die mit Einsporkulturen mit und ohne Mikrosklerotien oder dunklem Mycel infiziert worden waren, war gering. In allen Fällen traten die ersten Welkesymptome nach 11–15 Tagen auf. Eine Ausnahme bildeten die mit den Stämmen 37d und 39a infizierten Bäume, bei denen die Inkubationszeit 19 Tage betrug. Alle Einsporkulturen des Stammes 37, ob diese Mikrosklerotien bildeten oder nicht, verursachten einen gleich starken Befall. Bei zwei verschiedenen Stämmen, die beide von *Chrysanthemum* isoliert worden waren, verursachte derjenige mit Mikrosklerotien

einen stärkeren Befall als derjenige ohne Mikrosklerotien. Der Krankheitsindex betrug beim erstgenannten Stamm 13, beim anderen 9. Wohl stimmt dieses Resultat mit den Ergebnissen von BEWLEY (1922), PRESLEY (1941) und NELSON (1950) überein, aber es trat nur in einem von insgesamt acht ausgeführten Versuchen auf.

Die Resultate dieser Versuche zeigen, dass keine Korrelation zwischen dem Vorhandensein oder Fehlen von Mikrosklerotien oder dunklem Mycel im Inokulum und der Pathogenität der infizierten Stämme besteht (vgl. S. 696). Wohl unterschieden sich die verschiedenen *Verticillium*-Stämme in ihrer Pathogenität. Die von der Rübe und von *Chrysanthemum* isolierten hatten eine geringere Pathogenität als die anderen.

5. VERTICILLIUM ALS BODENBEWOHNER

Wie bereits auf Seite 690 ausgeführt wurde, wächst das Mycel von *Verticillium* aus den Gefässen heraus, sobald die Pflanze abzusterben beginnt. Wenn die Pflanze umgefallen ist und der Pilz keine lebende Wirtspflanze in der unmittelbaren Umgebung findet, kann er sich als Saprophyt im Boden weiter entwickeln und unter Umständen in ein Ruhestadium übergehen. Nähere Untersuchungen in diesem Verband wurden über folgende Probleme ausgeführt: die Ausbreitung des Pilzes im Boden, der eventuelle Aufbau der Population, der Abbau des Mycels und die Art der Ruhestadien.

a. *Die Ausbreitung von Verticillium im Boden*

Eine unmittelbare Ausbreitung von *Verticillium* im nicht sterilisierten Boden konnte weder durch McKAY (1926), der mit kranken Kartoffelpflanzen arbeitete noch durch ISAAC (1953b), der seine Versuche mit *Antirrhinum* ausführte, nachgewiesen werden. Wohl zeigten diese Autoren, dass die Ausbreitung von *Verticillium* durch Wurzelkontakt stattfinden kann. Ob sich das Mycel auch in der Erde selbst ausbreiten kann, wurde bei eigenen Versuchen mit sterilen Böden nachgeprüft. Dazu wurden 25 cm lange, gläserne Röhren von 7.5 cm Durchmesser mit Gartenerde gefüllt, beidends mit Watte abgeschlossen und sterilisiert. Hierauf wurde die Erde an einem Ende der Gläschen mit einigen Tröpfchen Sporensuspension von zwei *Verticillium*-Stämmen beimpft, von denen je einer zum d.M.- und zum Mskl-Typus gehörte. Für jeden Stamm wurden zwei Gläser verwendet. Das sich entwickelnde Mycel liess sich durch die Glaswand beobachten. Nach 26 Tagen konnte es auf einem Abstand von 6-7 cm von der Impfstelle entfernt wahrgenommen werden; nach 52 Tagen betrug dieser Abstand 7.5–9 cm. Zwischen den beiden Stämmen bestand in der Wachstumsschnellheit kein Unterschied. *Verticillium* vermag sich demnach in steriler Erde auszubreiten. Aller Wahrscheinlichkeit nach wird das Mycel in Form von einzelnen, bei mikroskopischen Bodenuntersuchungen nur schwierig zu beobachtenden Hyphen selbst einen grösseren Abstand von der Impfstelle erreicht haben.

Als Indikator für die Ausbreitung von *Verticillium* im Boden kann auch eine anfällige Pflanze dienen. Ein derartiger Versuch wurde

mit *Impatiens balsamina* ausgeführt. Ein Nachteil dieser Methode liegt darin, dass man nicht die Ausbreitung des Pilzes durch den Boden misst, wenn eine auf einem gewissen Abstand von der Impfstelle stehende Pflanze erkrankt, vielmehr kann der Befall auch durch Wurzelkontakt zu Stande gekommen sein. Um diesen Faktor auszuschliessen, wurde der Versuch in einer Kiste von 60 cm Länge,

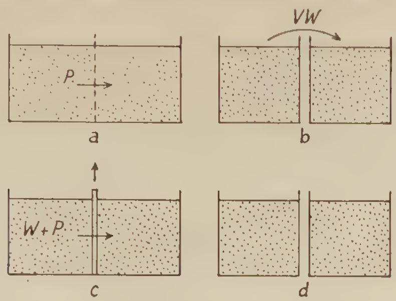


Abb. 18. Die Ausbreitung von *Verticillium* in sterilisierter Erde. a, nur möglich durch Mycelwachstum (P); b, nur möglich durch verseuchte Wurzelreste (VW); c, möglich durch Wurzelkontakt (W) und durch Mycelwachstum (P); d, Kontrolle.

30 cm Breite und Tiefe ausgeführt (Abb. 18a). Diese war durch ein feines Aluminium-Netz in zwei Hälften unterteilt worden und wurde mit sterilisierter Erde gefüllt. In die linke Hälfte wurden fünf Balsaminen-Pflänzchen gesetzt, die mit einer Sporensuspension des zum Mskl-Typus gehörenden *Verticillium*-Stammes No. 9 injiziert worden waren. Die fünf in die rechte Hälfte gesetzten Balsaminen-Pflänzchen waren mit Wasser injiziert worden. Die Wurzeln wuchsen wohl gegen das Aluminium-Netz, aber nicht durch die Löcher hindurch. So bestand kein Wurzelkontakt, dagegen konnte angenommen werden, dass der Pilz wohl im Stande war das die beiden Gefässhälften trennende Netz zu durchwachsen. Die mit *Verticillium* infizierten Pflanzen waren nach zwei Monaten abgestorben. Von den toten Wurzeln aus hatte der Pilz die linke Gefässhälfte besiedelt, denn eine zweite Gruppe von gesunden Balsaminen, die in diesem Boden ausgepflanzt wurden, erkrankten ebenfalls. Gleichzeitig wurde in der anderen Gefässhälfte die erste Gruppe der gesund gebliebenen Balsaminen durch eine zweite Gruppe von fünf Pflanzen ersetzt, die ebenfalls nach vier Monaten noch gesund waren. Der Pilz hatte sich also in dieser Zeit im Boden nicht durch das Netz hin ausgebreitet. Selbstverständlich war der ursprünglich sterilisierte Boden bei dem sechs Monate dauernden Versuch im Laufe der Zeit durch viele Mikroorganismen besiedelt worden. Die Möglichkeit ist nicht ausgeschlossen, dass diese die Ausbreitung von *Verticillium* gehemmt haben. Eine Wiederholung des Versuches unter Bedingungen, die ein sterilbleiben des Bodens garantieren, ist nicht gut möglich. (Über die antagonistische Wirkung von Mikroorganismen des Bodens siehe Seite 726).

Bei einem anderen Versuch wurde die Möglichkeit eines direkten Kontaktes von kranken mit gesunden Wurzeln untersucht. In ein

30 × 30 cm grosses Gefäss wurde sterile Erde gebracht (Abb. 18b), der Wurzeln von als Folge eines *Verticillium*-Befalls abgestorbenen Balsaminen-Pflanzen beigefügt wurden. Diese Wurzeln wurden in der obersten, 10 cm dicken Lage der Erde verteilt. In das Gefäss wurden hierauf fünf gesunde Balsaminen-Pflänzchen gesetzt. Der Versuch wurde zweimal ausgeführt; einmal erkrankten zwei, das andere mal drei Pflanzen. Durch *Verticillium*-Befall abgestorbene Wurzeln sind also ein Infektionsherd.

Bei einem folgenden Versuch wurde ein Gefäss von 30 × 60 cm Grösse durch eine wegnehmbare, hölzerne Scheidewand in zwei Hälften geteilt und mit steriler Erde gefüllt (Abb. 18c). In die linke Hälfte wurden fünf mit einer Sporensuspension von *Verticillium* infizierte Balsaminen gepflanzt. Die fünf in die rechte Hälfte gesetzten Pflanzen waren unbehandelt. Sobald die infizierten Pflanzen krank wurden, wurde die Scheidewand weggenommen. Zwischen den beiden Pflanzengruppen bestand nun die Möglichkeit von Wurzelkontakt, auch hatte der Pilz nun die Möglichkeit sich von der einen Gefässhälfte in die andere auszubreiten. Nach zwei Monaten waren die infizierten Pflanzen abgestorben, aber die Pflanzen in der anderen Gefässhälfte erkrankten nicht. Von einer folgenden Gruppe von in die beiden Hälften gesetzten Pflanzen, wurden auf der linken Seite einige krank; auf der rechten Seite dagegen blieben alle gesund. Bei diesem Versuch hatte sich der Pilz also weder durch Wurzelkontakt noch direkt durch den Boden ausgebreitet. Eine Infektion von absterbenden, infizierten Wurzeln aus kann wohl stattfinden, was schon aus dem oben beschriebenen Versuch hervorgeht und was auch dieser Versuch bestätigte, bei dem in der linken Gefässhälfte auch einige Pflanzen der zweiten Serie erkrankten. Dies deutet auf eine von toten Wurzeln ausgehende Infektion hin. Der Pilz wächst durch die Rinde heraus und kann mit den lebenden Wurzeln der jungen Pflanzen in Berührung kommen und in diese eindringen.

Ob durch den Kontakt von lebenden Wurzeln eine Infektion stattfinden kann, sollte der folgende Versuch zeigen. Eine 70 cm lange und 15 cm breite, hölzerne Kiste wurde mit steriler Erde gefüllt. Auf der einen Seite wurde eine Gruppe von fünf Balsaminen gepflanzt, in den restierenden Teil der Kiste wurden weitere sechs Pflänzchen auf je 10 cm Abstand gesetzt. Die ersten fünf Pflanzen wurden mit einer Sporensuspension injiziert. Diese waren nach sechs Wochen abgestorben; die anderen Pflanzen blieben dagegen gesund. Nach drei Monaten wurden die abgestorbenen und die noch gesunden Pflanzen dicht über der Erde abgeschnitten. Hierauf wurden dicht bei den alten Stengeln vorsichtig junge, gesunde Balsaminen gepflanzt. Diese zweite Reihe von Pflanzen wurde nach drei Monaten auf dieselbe Art und Weise durch eine dritte Reihe ersetzt. Bei der zweiten Reihe waren noch zwei der fünf Pflanzen, die an der Stelle der ursprünglich injizierten Balsaminen standen, erkrankt. Bei der dritten Reihe blieben überhaupt alle Pflanzen gesund. Dieser Versuch wurde noch zweimal mit vergleichbaren Resultaten wiederholt. In der Ecke der Kiste wurde von den fünf gruppengeweis gepflanzte

Balsaminen bei der erste Wiederholung bzw. 3 und 0, bei der zweite Wiederholung bzw. 2 und 0 Pflanzen krank. Beim Kontrolle-Versuch, bei dem die fünf gruppenweise gepflanzten Balsaminen mit Wasser injiziert wurden, blieben alle Pflanzen gesund.

Aus diesen Versuchen können die folgenden Schlüsse gezogen wurden:

1. Der durch Injektion in die Stengel gebrachte Pilz muss bis in die Wurzeln vorgedrungen sein, da nach der Entfernung der kranken Pflanzen, die an derselben Stelle gesetzten gesunden Pflanzen ebenfalls erkrankten.

2. Nacheinander folgende Reihen von jungen Pflanzen, ausgesetzt an Stellen von kranken Pflanzen, wurden anfänglich nur teilweise krank und blieben später völlig gesund. Der Verseuchungsgrad des Bodens nahm an den betreffenden Stellen gegen alle Erwartungen in nicht zu, sondern ab. Wahrscheinlich hatten sich andere Mikroorganismen derartig vermehrt, dass *Verticillium* durch ihre antagonistische Wirkung zurückgedrängt wurde.

3. Von den kranken Pflanzen aus vermochte sich der Pilz direkt im Boden nicht weiter auszubreiten.

4. Durch Kontakt von lebenden Wurzeln hatte keine weitere Ausbreitung des Pilzes stattgefunden.

Um der Möglichkeit einer Ausbreitung von *Verticillium* im Boden nachzugehen, wurden auch einige Versuche im Freien ausgeführt. Sechs 75 × 75 × 100 cm grosse Behälter aus Beton wurden mit nicht sterilisierter Gartenerde gefüllt. In diese wurden je 17 *Antirrhinum*pflänzchen einer einjährigen Rasse gesetzt (siehe Abb. 19). Die mittelsten Pflanzen in vier Behältern wurden mit *Verticillium* infiziert. Dazu wurde ein Stückchen Agar mit dem Mycel des Pilzes gegen den vorher leicht verwundeten Stengelfuss gelegt. Zwei Pflanzen wurden mit einer zum Mskl-Typus gehörenden Einsporkultur des Stammes No. 19 und zwei mit einer zum d.M.-Typus gehörenden Einsporkultur des Stammes No. 1 infiziert. Die Pflanzen in zwei Behältern dienten als Kontrolle. Im Herbst wurden alle Pflanzen über dem Boden abgeschnitten und im Mai des folgenden Jahres wurden an denselben Stellen wieder neue Pflänzchen gesetzt, ohne dass diese infiziert worden waren. Dasselbe wurde noch während den zwei folgenden Jahren wiederholt.

Im ersten Jahr wurden alle infizierten und eine kleinere oder grössere Zahl der im gleichen Behälter stehenden, nicht infizierten Pflanzen krank. Im zweiten Jahr nahm die Zahl der kranken Pflanzen noch zu, während im dritten und vierten Jahr nur noch einzelne Pflanzen erkrankten. Die Ausbreitung der Krankheit im ersten und zweiten Jahr kann wahrscheinlich auf den Kontakt von lebenden Wurzeln mit abgestorbenen, verseuchten Wurzelteilen zurückgeführt werden. Im dritten und vierten Jahr war der Befall stark vermindert. Der Verseuchungsgrad war wahrscheinlich als Folge der antagonistischen Wirkung der Boden-Mikroorganismen stark zurückgegangen. Auch veränderte der Zustand des Bodens durch die wieder-

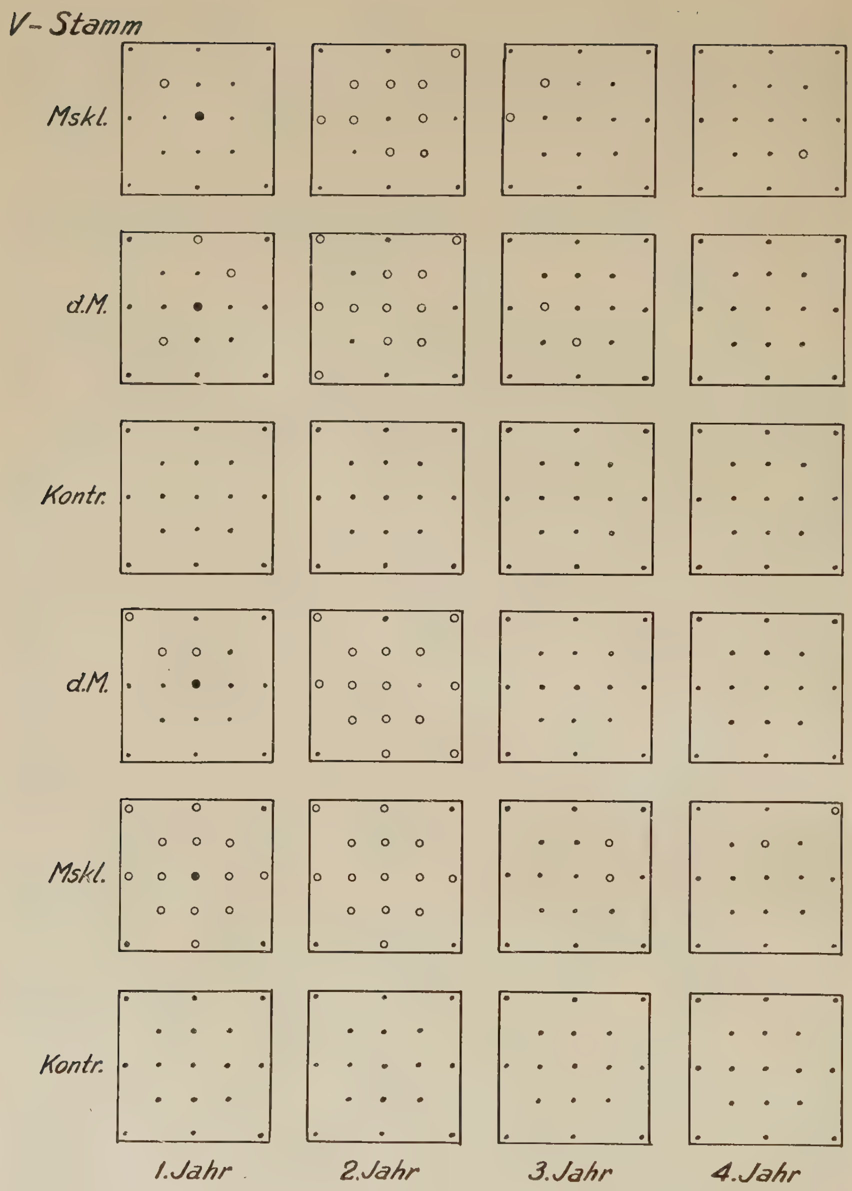


Abb. 19. Die Ausbreitung von *Verticillium* von einer infizierten Pflanze aus in nicht sterilisierten Böden und der Verlauf der Bodenverseuchung während 4 Jahren. ● infizierte Pflanzen; ○ erkrankte Pflanzen; • gesund gebliebene Pflanzen

holte Bepflanzung mit *Antirrhinum*. Vor allem wird während der Versuchsdauer der Gehalt der Gartenerde an organischen Stoffen stark zurückgegangen sein, wodurch immer mehr der im Boden lebenden Mikroorganismen auf die abgestorbenen Wurzeln der

Antirrhinum-Pflanzen angewiesen waren. Wenn *Verticillium* in diesen Wurzeln zugegen war, dann musste dieser Pilz im Wettbewerb unterliegen, so dass der Befallsgrad im Boden zurückging.

b. *Der Aufbau und Abbruch von Verticillium im Boden*

Um nachzugehen, ob sich im Boden eine *Verticillium*-Population aufbauen kann wurden folgende Versuche ausgeführt. 42 Blumentöpfe mit einem Durchmesser von 13 cm wurden mit sterilisierter Gartenerde gefüllt; in jeden wurde ein Balsaminen-Pflänzchen gesetzt. Nachdem diese gut angewachsen waren, wurden die Stengel von 30 Pflänzchen mit einer *Verticillium*-Sporensuspension injiziert; 12 Pflänzchen dienten als Kontrolle. Die Pflänzchen wurden auf Grund

TABELLE 26

Der Aufbau von *Verticillium* im Boden von infizierten Balsaminen aus

Krankheitsindex der Pflanzen beim Abschneiden	Zahl der kranken Pflanzen							
	vor dem Abschneiden		in 1-er Ersatzreihe		in 2-er Ersatzreihe		in Kontrolle	
	I	II	I	II	I	II	I	II
3	10	10	1	0	0	0	0	0
4	10	10	1	1	0	0	0	0
5	10	10	2	5	0	1	0	0

I und II: Versuche die während zwei aufeinander folgenden Jahren durchgeführt wurden. Zahl der Versuchspflanzen in jeder Gruppe 10.

der an ihnen auftretenden Krankheitsymptome beurteilt und in fünf Kategorien unterteilt (Krankheitsindex 1 = gesund, 5 = völlig abgestorben). Je zehn Pflänzchen wurden abgeschnitten, sobald sie ein Stadium erreicht hatten, das mit dem Krankheitsindex 3, 4 bzw. 5 übereinstimmte. Die Wurzeln blieben unberührt im Boden zurück. Zur Kontrolle wurden gleichzeitig bei jeder Gruppe vier gesunde Pflanzen abgeschnitten. Die abgeschnittenen Pflanzen wurden direkt durch neue ersetzt (erste Ersatzreihe). Nach ungefähr drei Monaten wurden diese Pflänzchen wiederum abgeschnitten und durch andere ersetzt (zweite Ersatzreihe). Dieser Versuch wurde zweimal ausgeführt (I und II in Tabelle 26). Der Gedanke war, dass der durch Injektion in den Stengel gebrachte Pilz im Verlaufe der Zeit bis in die Wurzeln vorgedrungen sein sollte und zwar in umsomehr Wurzeln, je mehr Zeit seit der Infektion verstrichen war und je stärker die Pflanzen erkrankten. Bei einem Krankheitsindex 5 sollte der Boden also mehr kranke Wurzeln enthalten als bei einem Krankheitsindex 3, so dass im ersten Fall ein grössere Zahl der die abgeschnittenen Pflanzen ersetzenden, jungen Pflanzen erkranken müsste. Dies wurde auch gefunden, doch nur in geringem Masse. Der Pilz vermochte sich jedoch im Boden nicht weiter zu kolonisieren, denn bei der zweiten Ersatzreihe erkrankten nur noch einzelne Pflanzen. Das Resultat kommt also mit dem im oben beschriebenen Versuch überein: *Verticillium* verträgt sich schlecht mit anderen Bodenmikroorganismen.

Ein weiterer Versuch wurde eingesetzt, um den Einfluss von

anfälligen Pflanzen auf den Verlauf des Verseuchungsgrades von Gartenerde zu bestimmen. Diesmal wurde im Autoklaven sterilisierte Erde verwendet, in die sieben Tage alte Schüttelkulturen von *Verticillium* gebracht wurden. Um die Kulturen fein verteilen zu können, wurden sie vorher mit einem Mixer in kleine Teile zerschlagen. Je nach Bedarf wurden die Kulturen im ersten Versuch mit Wasser, im zweiten mit einer Czapek Dox-Nährlösung verdünnt. Die dem Boden zugefügte Flüssigkeitsmenge war in allen Fällen dieselbe. Böden, denen 1000 cm³ unverdünnte Schüttelkulturen zugefügt wurden, wurden als 100 %-ig verseucht angenommen. Durch Verdünnen der Schüttelkulturen wurden Böden erhalten mit einer Verseuchung von 0, 1, 10, 25, 50 und 100 % (Versuch I) und 0, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10, 25, 50 und 100 % (Versuch II). Die Erde wurde

TABELLE 27
Die Zahl der erkrankten Pflanzen in Böden mit verschiedenen Verseuchungsgraden

Verseuchungsgrad in %	Reihe no.	1		2		3	
	Versuch	I	II	I	II	I	II
0		0	0	0	0	0	0
0.5		–	5	–	2	–	0
1.0		4	5	3	1	0	1
2.5		–	3	–	1	–	0
5.0		–	6	–	3	–	0
7.5		–	6	–	4	–	0
10.0		10	8	6	4	0	0
25.0		6	3	5	2	1	1
50.0		7	5	6	1	0	0
100.0		7	7	3	3	0	0

auf Kisten verteilt und mit je elf Balsaminen bepflanzt. Nach drei Monaten wurden diese Pflanzen direkt über der Erdoberfläche abgeschnitten und durch eine zweite Reihe ersetzt. Diese wurde nach wiederum drei Monaten durch eine dritte Reihe ersetzt. Nach einem Monat war sowohl im ersten wie im zweiten Versuch die Zahl der erkrankten Pflanzen in der zehn prozentig verseuchten Erde am grössten (Tabelle 27). Möglicherweise ist für das Auftreten der Krankheit bereits eine zu zehn Prozent verseuchte Erde optimal. Bei der zweiten Reihe der in die verschieden stark verseuchten Böden gepflanzten Balsaminen ging die Zahl der erkrankten Pflanzen zurück, was auf einen Rückgang des Verseuchungsgrades hinweist. Die dritte Reihe der in diese Böden gepflanzten Balsaminen blieb praktisch gesund. Der Verseuchungsgrad der Erde war also auf fast null zurückgelaufen. Die Resultate der beiden Parallel-Versuche stimmten vollkommen miteinander überein.

Die Resultate der Seite 714-720 beschriebenen Versuche über die Ausbreitung und den Aufbau von *Verticillium* benötigen ein nähere Präzisierung. Obwohl sich die Resultate in gewissen Fällen scheinbar widersprechen, lässt sich hierfür doch im biologischen Gleichgewicht des Bodens eine algemeine Erklärung finden. In *sterilisierten* Böden ist

Verticillium im Stande, sich durch Mycelwachstum aktiv auszubreiten. Hier fehlt jede Konkurrenz von anderen Mikroorganismen. Bei den andern beschriebenen Versuchen (Tab. 26 und 27) war die gedämpfte Erde jedoch nur *anfänglich steril*, hier konnte sich der Pilz von den durch Injektion in den Stengel infizierten Pflanzen aus anfänglich durch den Boden oder durch den Kontakt von lebenden Wurzeln mit abgestorbenen, verseuchten Wurzelteilen ausbreiten. Bevor der Pilz jedoch von der Pflanze aus den Boden kolonisiert hat, können diesen auch andere Mikroorganismen mit Hilfe ihrer Sporen erreicht und besiedelt haben. Bis *Verticillium* nach der künstlichen Infektion vom Stengel aus die Wurzeln erreicht hat und diese absterben, kann sich um die Wurzeln der gesunden Pflanzen bereits eine Mikroflora aufgebaut haben, die *Verticillium* den Zutritt zu diesen Wurzeln verwehren kann. Wird jedoch die anfänglich sterile Erde mit *Verticillium* verseucht, dann dauert der Konkurrenz-Streit um den Besitz des Bodens länger und sinkt der Verseuchungsgrad langsamer unter sein Infektionsvermögen. Dies sahen wir bei den Versuchen über den Aufbau nach der Infektion des Bodens mit Schüttelkulturen von *Verticillium*. Wird dagegen *Verticillium* in *nicht sterilisierte* Erde gebracht, dann findet eine Gleichgewichtstörung statt, deren Dauer unter anderem von der Menge des Inokulums abhängig sein kann.

c. *Die Lebensfähigkeit von Verticillium im Boden*

Aus den oben beschriebenen Versuchen geht hervor (Abb. 19), dass *Verticillium* im Stande ist, wenigstens während eines Winters auf Pflanzenresten in nicht steriler Erde zu leben, ohne dass in dieser eine Pflanze wächst.

In einem anderen Versuch wurde nachgeprüft, wie lange der Pilz sich in bleibend steriler, anfänglich steriler und nicht steriler, kompostreicher Gartenerde zu handhaben vermag.

Die in geschlossenen Glaskölben sterilisierte Erde wurde mit Sporensuspensionen verseucht und zwar mit den Stämmen No. 9 von Mskl-Typus, No. 1 von d.M.-Typus und No. 23 und 24, zwei Chl-Typen. Die Kolben wurden im Freien unter ein Schutzdach überwintert. Mit Sporensuspensionen der gleichen Stämmen wurde auch kurz vorher sterilisierte und nicht sterile Erde verseucht. Diese Portionen wurden in offenen Einmachgläsern bewahrt. Ein, zwei, drei und fünf Monate nach dem Versuchsbeginn wurde probiert, *Verticillium* aus den mit Sporensuspensionen verseuchten Erd-Portionen zu isolieren, und zwar nach der von Brierley und Brierley (1927) angegebene Methode (Tab. 28). Ein Gramm Erde wurde in 20.000 cm^3 steriles Wasser gebracht. Von der erhaltenen Suspension wurde je ein cm^3 zu 15 cm^3 gerade noch flüssigem Czapek Dox-Agar gefügt. Diese Mengung wurde unter fortdauerndem Schütteln in eine Petrischale gegossen, wo sie erstarrte. Jede Isolierung wurde achtfach ausgeführt. Bei der nach fünf Monaten ausgeführten Reisolierung wurde auch nach der von Warcup (1950) beschriebenen Methode gearbeitet. Kleine Klümpchen Erde wurden in den hierbei vorgeschriebenen Nährböden fein verteilt. Die erhaltenen Resultate waren

TABELLE 28

Zahl der Kolonien in acht Petrischalen bei Reisolierung von *Verticillium* aus verseuchter Erde nach:

Verticillium-Stämme		30 Tagen			60 Tagen			90 Tagen			150 Tagen			
		S	G	O	S	G	O	S	G	O	S		G	O
No.	Typus	B			B			B			B	W	B^2	B
2	d.M.	25	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	5	0
9	Mskl	376	0	3	16	1	1	216	0	1	3	8	0	0
23	Chl	∞	0	0	104	6	1	3	17	2	3	8	2	0
24	,,	∞	8	3	9	1	0	0	1	0	0	0	12	0
	Kontrolle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

S = Sterile Erde;
G = ursprünglich sterilisierte Erde;
O = nicht sterilisierte Erde;
B = Methode Brierley;
W = Methode Warcup.

nicht einheitlich und unsicher, sodass sich daraus nur wenige Folgerungen ziehen lassen. Wohl kann gesagt werden, dass sich nach fünf Monaten der zum Mskl-Typus gehörende Stamm noch aus steriler Erde und der zum d.M.-Typus noch aus anfänglich steriler Erde isolieren liess. In nicht steriler Erde scheint sich *Verticillium* wenigstens nicht in einer nach den oben beschriebenen Methoden zu isolierenden Form handhaben zu können.

Auch Isaac (1953a) konnte sowohl zum Mskl-Typus wie zum d.M.-Typus gehörende Stämme von *Verticillium* nach einer gewissen Zeit nicht mehr aus verseuchter Erde isolieren. *Antirrhinum*- und Tomatenpflanzen, die in diese Erde gepflanzt wurden, erkrankten dagegen noch. Aus dieser Tatsache könnte man den Schluss ziehen, dass der Pilz entweder nur noch in einer sehr geringen Menge im Boden vorkommt oder dass er in ein Ruhestadium übergangen ist, das auf den verwendeten Nährböden nicht keimt.

d. *Ruhestadien von Verticillium im Boden*

Der in den Niederlanden meist vorkommende *Verticillium*-Typus bildet in der absterbenden Pflanze Mikrosklerotien, die auf und in der Erde zurechtkommen. Hier sollten sie, wie algemein angenommen wird, unter günstigen Umständen keimen (Klebahn, 1913; Van der Lek, 1918; Bewley, 1922; Isaac, 1946 und Wilhelm, 1950a, b).

Die Mikrosklerotien bestehen aus Zellen, deren Wände dick und dunkel gefärbt sind und die ein dichtes Protoplasma und zahlreiche Oeltröpfchen enthalten. Man kann sich die Frage stellen, ob diese Zellen wirklich noch keimfähig sind. Die Keimung der Mikrosklerotien wurde in einigen Versuchen näher untersucht. Bald zeigte es sich, dass es unmöglich ist, eine reine Suspension von Mikrosklerotien zu erhalten. Diese Körperchen sind immer mit den Hyphen verbunden, an denen sie sich ursprünglich entwickelt haben. In den Suspensionen sind auch immer Konidien zugegen. Nach Porter (1954) sollen

Mikrosklerotien innerhalb von 48 Stunden in sterilem Wasser, in Czapek Dox-Nährlösung oder in Extrakten von Wurzeln und Rhizomen von Mentha piperita keimen können. Über den Verlauf der Keimung gab PORTER (1954) keine Einzelheiten bekannt. Wahrscheinlich wurde auch von ihm anhaftendes Mycel und Sporen beobachtet, die er mit Hilfe einer Temperaturbehandlung von den Mikrosklerotien zu scheiden probierte. Nachdem er die Suspensionen während 60 Minuten auf eine Temperatur von 47° C gebracht hatte, keimten die Konidien nicht mehr. Bei 16 von 20 so behandelten Mikrosklerotien-Suspensionen trat auf Agarböden gebracht erneut Mycelwachstum auf. Hier kann jedoch das Mikrosklerotium selbst gekeimt sein oder das ihm anhaftende Mycel kann sich weiter entwickelt haben.

Um diese Frage zu lösen wurden bei einem ersten Versuch die Mikrosklerotien teilweise mit Sublimat-Alkohol 0.1 %, teilweise mit Silbernitrat 0.1 % äusserlich desinfiziert. Nach einer Behandlung mit Sublimat-Alkohol während einer Minute war das Mycel nicht mehr im Stande zu wachsen, bei Silbernitrat lag diese Grenze bei fünf Minuten. Die behandelten Mikrosklerotien keimten nicht mehr, wenn sie auf Kirschenagar, Czapek Dox-Agar oder in ein Wurzelsekret von Balsaminenpflanzen gebracht wurden. Aus den zur Kontrolle nicht behandelten Mikrosklerotien-Suspensionen entwickelte sich dagegen ein neues Mycel. Auch Infektionsversuche mit behandelten Mikrosklerotien-Suspensionen auf *Impatiens balsamina* blieben negativ. Die Mikrosklerotien waren also gegenüber diesem Desinfektionsmittel gleich empfindlich wie das Mycel. Hierauf wurde nachgeprüft, ob ein Unterschied in der Empfindlichkeit gegenüber hohen Temperaturen zwischen den Mikrosklerotien und dem Mycel von *Verticillium* besteht. Suspensionen von Mikrosklerotien des von Porter erhaltenen Stammes No. 22 und eines von *Chrysanthemum* isolierten Stammes No. 40 wurden während einer Stunde auf eine Temperatur von 47° C gebracht. Als Kontrolle dienten bei Zimmertemperatur gehaltene Suspensionen von Mikrosklerotien. Die Keimung der Sporen und Mikrosklerotien wurde unter dem Mikroskop in einem Tropfen Wasser auf einem etwas hohl geschliffenen Objektgläschen kontrolliert.

TABELLE 29

Die Keimung der Sporen und Mikrosklerotien von einigen *Verticillium*-Stämmen nach verschiedener Behandlung

Verticillium-Stämme		Behandlung der Suspension	Keimung	
No.	Typus		Mycel und Sporen	Mikrosklerotien
22	Mskl	Eine Stunde 20° C	+	—
22	,,	,, ,, 47° C	—	—
40	,,	,, ,, 20° C	+	—
40	,,	,, ,, 47° C	—	—
19	,,	Vier Monate r.F. 95 %	+	—
19	,,	,, ,, r.F. 0.1 %	—	—

r.F. = relative Feuchtigkeit.

Die Sporen keimten nur in den nicht erwärmten Suspensionen; eine Keimung von Zellen der Mikrosklerotien konnte überhaupt nie beobachtet werden (Tab. 29).

Nun wurde probiert durch Austrocknung eine Trennung der Mikrosklerotien vom anhaftenden Mycel zu erreichen. Dazu wurden Suspensionen von Mikrosklerotien des *Verticillium*-Stammes No. 19 hergestellt. Die Mikrosklerotien wurden abfiltriert und während vier Monaten in einem Schwefelsäure-Exsiccator unter Vakuum bewahrt. Als Vergleich dienten Mikrosklerotien desselben Stammes, die während vier Monaten bei einer Feuchtigkeit von 95 % bei 0° C bewahrt worden waren. Nach einem Verbleib von vier Monaten im Exsiccator konnte keine Keimung mehr beobachtet werden: sowohl die Sporen wie die Mikrosklerotien und das diesen anhaftende Mycel waren nicht mehr im Stande sich weiter zu entwickeln. Auch wenn die Mikrosklerotien in zweimal über Glas destilliertes Wasser oder in Kirschensaft gebracht wurden, keimten sie nicht. Der Austrocknungsprozess im Exsiccator ist scheinbar so kräftig, das der Pilz völlig abstirbt. Auch wurden Tröpfchen Suspensionen von Mikrosklerotien und Sporen der *Verticillium*-Stämme No. 19, 22 und 40 nach einem Verbleib von einer Stunde bei 47° C auf Kirschenagar und Czapek Dox-Agar gebracht. In keinem Falle trat Wachstum auf. In einem Tropfen Wasser, in dem einige der bei 0° C bewahrten Mikrosklerotien gebracht worden waren, entwickelte sich *Verticillium*-Mycel. Dieses bildete sich jedoch wiederum nicht aus den Zellen der Mikrosklerotien, sondern entweder aus Konidien oder aus altem Mycel, das immer an den Mikrosklerotien zu finden ist.

Es könnte auch möglich sein, dass die Mikrosklerotien erst unter dem Einfluss von Wurzelsekreten anfälliger Pflanzen keimen. Um diese Möglichkeit nachzuprüfen, wurden aus desinfizierten Saaten

TABELLE 30

Das Wachstum von *Verticillium* nach Erwärmung auf 47° C oder nach Austrocknung in der Nähe von Tomatenwurzeln

Verticillium-Stämme		Behandlung der Suspension	Keimung			
			mit Tomatenwurzeln		ohne Tomatenwurzeln	
No.	Typus		Myc.+Sp.	Mskl	Myc.+Sp.	Mskl
22	Mskl	Eine Stunde 20° C	+	—	+	—
22	,,	,, ,, 47° C	—	—	—	—
40	,,	,, ,, 20° C	+	—	+	—
40	,,	,, ,, 47° C	—	—	—	—
19	,,	Vier Monate r.F. 95 %	+	—	+	—
19	,,	,, ,, r.F. 0.1 %	—	—	—	—

r.F. = relative Feuchtigkeit.

herangezogene Tomatenkeimpflanzen in Petrischalen auf Kirschenagar ausgelegt. Von Suspensionen mit Mikrosklerotien, die während einer Stunde eine Temperatur-Behandlung von 47° C erhalten hatten oder die während vier Monaten in einem Exsiccator bewahrt

worden waren, wurden fünf Tröpfchen rund um die Wurzeln von je zwei Pflänzchen gelegt. Kontroll-Versuche wurden ohne diese Pflänzchen ausgeführt. Dieser Versuch wurde in duplo ausgeführt und später nochmals mit einem Czapek Dox-Nährboden wiederholt. Hierbei wurden sowohl Tomaten- als Balsaminen-Keimpflänzchen verwendet. In allen Fällen war das Resultat dasselbe; niemals konnte eine Keimung der Mikrosklerotien beobachtet werden. Von einem Einfluss von Wurzelsekreten war also nichts merkbar (Tabelle 30).

Auch das Begraben von behandelten Mikrosklerotien in steriler und nicht steriler Erde gab keine Anweisung über deren Keimung. Ein Versuch mit einem wässerigen Extrakt aus Gartenerde, der sowohl im Autoklaven sterilisiert wie durch ein Glasfilter abfiltriert worden war und der zur Herstellung von Mikrosklerotien-Suspensionen gebraucht wurde, blieb ebenfalls resultatlos. Auf Agar und in hängenden Tröpfen konnte nur ein Wachstum des Mycels gefunden werden, wenn die Suspensionen von Mikrosklerotien nicht während einer Stunde auf 47° C gebracht worden waren. Es ist deshalb nicht gelungen, *Verticillium*-Suspensionen so zu behandeln, dass die Sporen und das Mycel getötet wurde, die Mikrosklerotien aber noch keimfähig blieben. Porter's Beobachtungen konnten also nicht bestätigt werden. Die dunklen Zellen der Mikrosklerotien waren nie imstande zu keimen.

Wenn die Mikrosklerotien an sich nicht mehr keimfähig sind, welche Funktion erfüllen sie dann? Möglicherweise stellen sie nichts anderes als degenerierte Mycelklumpen dar oder sind die Lagerungsräume von Reservestoffen, die das alte Mycel bei erneutem Wachstum gebrauchen kann.

6. Einige Bemerkungen über die Bekämpfung von Verticillium

a. *Der Einfluss des Fruchtwechsels auf Verticillium*

Die Bekämpfung von *Verticillium* wird durch den polyphagen Charakter des Pilzes erschwert. Im Laufe der Zeit sind immer wieder neue Pflanzen als *Verticillium*-anfällig bekannt geworden. Verschiedene Pflanzenarten wurden dann auch in den Kreis der phytopathologischen Untersuchungen eingezogen. Dies war zum Beispiel bei Flachs, Zichorienwurzel, Rosenkohl (Isaac, 1957), Spargel- und Blumenkohl (Natti, 1958), Luzerne und (bei der Samenzüchtung) bei Rüben und Spinat der Fall. Ferner kommen immer wieder andere Varietäten von ökonomisch wichtigen Pflanzenarten auf den Markt, von denen möglicherweise manche für *Verticillium* anfälliger sind. Bei vielen Gewächsen tritt *Verticillium* regelmässig auf; bei anderen wie Getreide, Klee oder Erbsen wird der Pilz nur selten oder überhaupt nie gefunden. Durch die Inachtnahme eines richtigen Fruchtwechsels, bei dem nie anfällige Gewächse nacheinander angebaut werden, kann *Verticillium* im Boden zurückgedrängt werden. Über eine günstige Vorfrucht, die dem Anbaue eines *Verticillium*-anfälligen Gewächses vorauszugehen hat, ist jedoch noch wenig bekannt (Nelson, 1950).

Anderseits wird *Verticillium* im Boden nach einer kurzen Aufbau-

Periode wieder ziemlich schnell zurückgedrängt, was die oben (S. 718-721) beschriebenen Versuche zeigen. Mit unseren Ergebnissen übereinstimmende Resultate erhielten Akeley c.s. (1956) in Feldversuchen bei einem wiederholten Anbau von Kartoffeln. In den ersten zwei Jahren des Versuches baute sich die Krankheit auf, während im dritten und vierten Jahr die Zahl der erkrankten Pflanzen stark abnahm (Abb. 19). Dies bedeutet, dass man nicht zwei Jahre nacheinander dasselbe, anfällige Gewächs auf derselben Parzelle anbauen sollte. Höchstwahrscheinlich hält sich *Verticillium* im Boden auf den abgestorbenen Pflanzenteilen im Stande, aber sobald diese verzehrt sind, wird *Verticillium* den Konkurrenz-Streit mit den typischen Bodenpilzen nicht mehr überleben können.

Isaac (1954) fand in Topfversuchen mit Tomaten und *Antirrhinum* eine antagonistische Wirkung eines als *Blastomyces luteus* bestimmten Pilzes. Wenn dieser Pilz während drei bis vier Monaten mit *Verticillium* im Boden anwesend war, nahm die Zahl der erkrankten Pflanzen stark ab.

Bei eigenen Versuchen wurde die antagonistische Wirkung dieses Pilzes, wie auch die von *Penicillium nigricans* Bain (= syn. *Penicillium janczewskii* Zaleski), *Penicillium brevicompactum* Dierckx und *Trichoderma viride* Pers. ex Fries (Stamm 213) auf *Verticillium* untersucht [1]). Sterile, auf zwölf Kistchen verteilte Erde wurde mit den verschiedenen Pilzen verseucht: durch die Erde wurden je 250 cm³ einer sieben Tage alten Schüttelkultur gemengt. Ein Teil der Erde wurde nur mit den mut-

TABELLE 31

Die antagonistische Wirkung von einigen Bodenmikroorganismen auf *Verticillium*

Sterile Erde infiziert mit:	Zahl der erkrankten Pflanzen (von insgesamt 3 × 11) nach:							
	30 Tagen				90 Tagen			
	I	II	III	total	I	II	III	total
Penicillium brevicompactum	0	0	0	0	0	0	0	0
P. brevicompactum + *Verticillium*	2	1	5	8	5	5	5	15
Penicillium nigricans	0	0	0	0	0	0	0	0
P. nigricans + *Verticillium*	0	1	2	3	6	3	10	19
Trichoderma viride	0	0	0	0	0	0	0	0
T. viride + *Verticillium*	2	2	4	8	7	3	10	20
Blastomyces luteus	0	0	0	0	0	0	0	0
B. luteus + *Verticillium*	6	3	5	14	10	8	7	25
P. brevicompactum + *P. nigricans* } *T. viride* + *B. luteus* }	0	0	0	0	0	0	0	0
P. brevic. + *P. nigric.* } *T. viride* + *B. luteus* } + *Vertic.*	0	3	2	5	0	4	6	10
Sterile Erde	0	0	0	0	0	0	0	0
Sterile Erde + *Verticillium*	3	7	9	19	5	7	10	22

I, II und III Resultate von drei nacheinander genommenen Versuchen.

[1]) Reinkulturen dieser Pilze wurden vom "Centraal Bureau voor Schimmelcultures" (C.B.S.) in Baarn erhalten mit der Bemerkung, dass es sich bei der von Isaac als *Blastomyces luteus* eingeschickten Kultur allem Anscheine nach um eine *Malbranchea*-Art handelt.

masslichen Antagonisten, einzeln und mit allen vier gemeinschaftlich, ein anderer Teil mit diesen und mit *Verticillium* beimpft. Als Kontrollen dienten ferner sterile und nur mit *Verticillium* beimpfte Erde. 17 Tage später wurden in die Erde je elf Pflänzchen von *Impatiens balsamina* gepflanzt. Der Versuch wurde dreimal wiederholt. Die mit *Verticillium* in die Erde gebrachten Pilze übten während des ersten Monates eine hemmende Wirkung auf den Parasiten aus (Tab. 31). Am stärksten war die Wirkung bei der mit *P. nigricans* und der mit allen vier "Antagonisten" beimpften Erde. Nach vier Monaten war jede hemmende Wirkung der vier einzeln der *Verticillium*-verseuchten Erde zugefügten Pilze verschwunden. Wo jedoch alle vier Antagonisten gemeinsam in die Erde gebracht worden waren, liess sich noch eine deutliche Hemmung des *Verticillium*-Befalles wahrnehmen.

b. *Sanitäre Massnahmen*

Es hat sich gezeigt, dass die Menge des im Boden zurückbleibenden, befallenen Pflanzenmaterials auf die Verseuchung einen grossen Einfluss haben kann. Es ist darum empfehlenswert, die befallenen Pflanzen oder Pflanzenteile so gut als möglich aufzuräumen. Die Blätter der *Verticillium*-kranken Eschen fallen frühzeitig ab und da sie den Pilz enthalten, stellen sie einen Infektionsherd für die noch gesunden Bäume dar. Bei der Samenzüchtung der Zuckerrüben werden die reifen Samen gewonnen und die Samenpflanzen bleiben stehen. Bei einer stark verseuchten Rübenparzelle sollten diese alten Pflanzen direkt aufgeräumt oder durch eine baldige Bodenbearbeitung sollte der Abbruch des Materials beschleunigt werden. Bei der Luzernezucht bilden die alten Stoppeln einen Infektionsherd. Möglicherweise lässt sich auch hier die Zersetzung der Pflanzenreste durch eine geeignete Bodenbearbeitung im Herbst und Winter beschleunigen.

c. *Unkräuter als Zwischenwirte von Verticillium*

Ebenfalls ist es empfehlenswert, die Unkräuter auch während der Zeit, in der das Land brach liegt, gründlich zu entfernen. In der Literatur liegen einzelne Meldungen über das Vorkommen von *Verticillium* auf Unkräutern vor. Hierbei wird aber kaum über Versuche berichtet. Nur HARRIS (1956) und VAN DEN ENDE (1956) gingen etwas eingehender auf dieses Problem ein. Bei den hier zu besprechenden Infektionsversuchen wurde mit vier *Verticillium*-Stämmen gearbeitet, die von einer Zuckerrübe (No. 29), von *Chrysanthemum* (No. 40), von einer Erdbeerpflanze (No. 20) und von Tomate (No. 19) isoliert worden waren und die zum Mskl-Typus gehörten. Als Versuchspflanzen dienten die folgenden Unkräuter: *Chrysanthemum leucanthemum*, *Urtica urens*, *Solanum nigrum* und die Wildform von *Fragaria vesca*. Nach dem Eintauchen der Wurzeln in Sporensuspensionen der vier genannten *Verticillium*-Stämme wurden die Pflänzchen in Gartenerde im Freien ausgepflanzt. Symptome traten nur bei *Urtica urens* und *Fragaria vesca* auf. Die infizierten Pflanzen blieben im Wachstum stark zurück. Bei den Brandnesseln verwelkten hie und da einzelne Blätter; bei den wilden Erdbeeren wurden neben dem Verwelken von Blättern

auf einigen Blütenstengeln und Blattstielen dunkle Verfärbungen beobachtet. Die Wachstumshemmung wurde 36 Tage nach der Infektion bestimmt. Bei den Brandnesseln wurde die Höhe der Pflanzen bestimmt (Tab. 33) und bei den Erdbeeren wurde von jeder Pflanze die Breite der drei grössten der zusammengestellten Blätter gemessen (Tab. 33).

TABELLE 32

Die Reisolierung von *Verticillium* aus infizierten Unkräutern

Verticillium-Stämme		Marguerite		wilde Erdbeere		Brandnessel		schw. Nachtschatten	
No.	Isoliert aus	Sympt.	Reisol.	Sympt.	Reisol.	Sympt.	Reisol.	Sympt.	Reisol.
19	*Solanum lycopersicum*	—	+	+	+	+	+	—	+
20	*Fragaria Oberschlesien*	—	+	+	+	+	+	—	+
29	*Beta vulgaris*	—	+	+	+	+	+	—	+
40	*Chrysanthemum* spec.	—	+	+	+	+	+	—	+
	Kontrolle	—	—	—	—	—	—	—	—

— = keine Symptome oder Reisolierung negativ;
\+ = Symptome oder Reisolierung positiv.

TABELLE 33

Länge der Stengel von *Urtica urens* und mittlere Blattbreite von *Fragaria vesca* bei mit *Verticillium* infizierten Pflanzen

Verticillium-Stämme		*Urtica urens*		*Fragaria vesca*			
No.	Isoliert aus	Zahl der Pflanzen	Mittlere Länge in cm	Zahl der Pflanzen	Mittlere Breite der 3 grössten Blätter in cm a	b	c
19	*Solanum lycopersicum*	15	18.5	11	7.4	6.7	5.8
20	*Fragaria Oberschlesien*	15	18.8	10	7.3	6.9	6.4
29	*Beta vulgaris*	14	20.9	11	8.1	7.3	6.5
40	*Chrysanthemum* spec.	15	21.9	10	7.1	6.6	5.9
	Kontrolle	14	28.1	11	10.0	9.0	8.1

a, b und c = Mittlere Breite der zehn grössten, zweitgrössten und drittgrössten Blättern.

Der Pilz liess sich aus den vier infizierten Unkräutern reisolieren (Tab. 32). Obwohl die Marguerite und der schwarze Nachtschatten ohne Symptome blieben, hatte sich der Pilz durch den ganzen Stengel ausgebreitet. Diese Pflanzen sind also als Träger des Pilzes tolerant. Die vier verschiedenen Stämme von *Verticillium* reagierten auf jedem der vier geprüften Unkräuter in gleicher Weise. Dass die vom Pilz befallenen Erdbeeren und Brandnesseln kleiner bleiben, fällt auf dem Felde nicht auf; die Krankheit der Pflanzen wird übersehen. Versuche über das Zurückbleiben von *Verticillium* in Ackerböden (Wilhelm, 1955a) haben für die Praxis wenig Sinn, da sowohl auf brach liegenden wie bepflanzten Böden immer Unkräuter vorkommen, die für den Pilz anfällig oder tolerant sind.

d. *Züchtung von resistenten Rassen*

Eine Möglichkeit, um Pilzkrankheiten indirekt zu bekämpfen

bietet die Züchtung von resistenten Rassen. In Amerika wurden in der Resistenzzüchtung gegenüber *Verticillium* bei Tomaten, (Lesley c.s., 1952), Erdbeeren (Wilhelm, 1954a, 1955b) und Baumwolle (Presley, 1950) beachtliche Resultate erzielt. Bei eigenen Versuchen wurden vier Rassen von *Impatiens balsamina* und vier Rübenrassen auf ihre Anfälligkeit gegenüber *Verticillium* geprüft (Tab. 34). Unter den Balsaminen erwies sich die Rasse "Camelliabloemige wit" als am empfindlichsten. Jedoch sind die Unterschiede in der Anfälligkeit zu gering, um praktischen Wert zu haben. Bei den geprüften Rübenrassen handelte es sich um je die beiden hierzulande am meisten angepflanzten Zucker- und Futterrüben. Hier konnten im Befall

TABELLE 34

Befall von vier Rüben-Varietäten durch *Verticillium*

Varietät	Infektiert:			
	30 Tage nach dem Sähen		60 Tage nach dem Sähen	
	Zahl der infizierten Pflanzen	kranke Pflanzen	Zahl der infizierten Pflanzen	kranke Pflanzen
Klein Wanzleben E.	10	7	10	6
Hilleshög	10	8	10	7
Groeningia	10	9	9	6
Productiva	10	6	9	5

keine Unterschiede gefunden werden; alle vier Rassen wurden von *Verticillium* stark befallen. Obwohl bei diesen Pflanzen zwischen den geprüften Rassen nur geringe Unterschiede in der Anfälligkeit gefunden werden konnten, muss das Suchen nach und Züchten von resistenten Rassen fortgesetzt werden. Dies dringt sich umsomehr auf, da gegen Gefässkrankheiten wie sie *Verticillium* verursacht noch keine zutreffenden Bekämpfungsmittel bekannt sind.

Da *Verticillium* polyphag ist und in zahlreiche, morphologisch und biologisch abweichende Stämme zerfällt, wird es schwierig sein, wirklich resistente Rassen zu finden. Es werden sich immer wieder Stämme finden, die eine gegenüber andern Stämmen unanfällige Rasse befallen können. Es könnte schon von grossem Nutzen sein, wenn eine neue Rasse oder Varietät einer bestimmten Wirtspflanze weniger anfällig wäre als eine gegenwärtig viel angepflanzte.

V. BESPRECHUNG UND ZUSAMMENFASSUNG DER RESULTATE

1. Morphologie und Umgrenzung

Die pflanzenparasitären *Verticillium*-Stämme werden in der Literatur der Hauptsache nach unter den Namen *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berth. und *V. dahliae* Kleb. beschrieben. Sowohl Reinke und Berthold (1879) wie Klebahn (1913) haben jedoch ihre Beschreibung der Art nur auf wenigen Isolierungen aus einer bestimmten Wirtspflanze basiert. *V. dahliae* sollte sich von *V. albo-*

atrum durch den Besitz eines aus Mikrosklerotien bestehenden Ruhestadiums unterscheiden. Dagegen sollte *V. albo-atrum* dunkle gebündelte Hyphen bilden.

Später wurden in der Literatur zahlreiche Typen beschrieben, von denen einige wohl zu den Beschreibungen einer der beiden Arten passen, andere jedoch nicht. So wurden durch VAN DER MEER (1925) und ISAAC (1949) *Verticillium*-Stämme aus kranken Pflanzen isoliert, die in Reinkultur zwischen dem weissen Mycel lockere, dunkle Hyphen bildeten. Auch diese Stämme wurden bei *V. albo-atrum* untergebracht.

LONGRÉE (1940), MCKEEN (1943) und KEYWORTH (1952) isolierten *Verticillium*-Stämme, in denen sowohl lockere, dunkle Hyphen wie Mikrosklerotien vorkamen; PRESLEY (1941) erhielt selbst in einer Einsporkultur Saltanten der beiden Typen, die er alle zu *V. albo-atrum* rechnete.

In den oben genannten Fällen wurden also *Verticillium*-Stämme, die nicht zu den alten Artsbeschreibungen passten, bei *V. albo-atrum* untergebracht. PEGG (1957) wies dagegen bei einem von ihm erhaltenen Saltanten auf die Verwandtschaft mit einer nicht parasitären Art hin, die durch ISAAC und DAVIES (1955) als *V. intertextum* beschrieben worden war. Dieser Saltant wurde aus einem *Verticillium*-Stamm mit lockeren, dunklen Hyphen erhalten, bildete in Reinkultur Bündel von hyalinen Hyphen und war bei Infektionsversuchen auf Tomaten pathogen. Diese Vorbilder zeigen die grosse Veränderlichkeit der isolierten *Verticillium*-Stämme.

Bei eigenen Untersuchungen wurden 69 von den verschiedensten Wirtspflanzen isolierte Stämme untersucht und miteinander verglichen. Drei davon bildeten in Reinkultur lockere, dunkle Hyphen, bei 64 entstanden Mikrosklerotien und bei zwei Stämmen wurden dunkle Hyphenbündel angetroffen. Die letztgenannten stimmten mit der ursprünglichen Beschreibung von *V. albo-atrum* überein. Obwohl die drei erstgenannten Stämme nicht zu dieser passen, müssten sie, wenn man ISAAC (1949) und VAN DER MEER (1925) folgen würde, ebenfalls zu *V. albo-atrum* gestellt werden, während die 64 Mikrosklerotien bildenden Stämme zu *V. dahliae* gehören würden.

In älteren Kulturen der Stämme mit dunklen Hyphenbündeln wurde jedoch folgendes beobachtet: Durch wiederholte Sprossbildung von einzelnen Zellen fielen die Hyphenbündel in traubenartige Körperchen auseinander, die sich von den in 64 anderen Kulturen gebildeten Mikrosklerotien nicht unterscheiden liessen, die daher zu *V. dahliae* gerechnet werden müssten. Die Stämme, die in einem jungen Stadium deutlich zu *V. albo-atrum* zu gehören schienen, zeigten also in einem späteren Stadium ebenso charakteristische Merkmale von *V. dahliae*. Eine Unterscheidung von zwei verschiedenen Arten ist in derartigen Fällen zwecklos. Nur ein Artname lässt sich handhaben, nämlich *V. albo-atrum* als der älteste. Unter diesem sollten nicht nur die Typen mit dunklen Hyphenbündeln, sondern auch diejenigen mit Mikrosklerotien oder mit lockeren, dunklen Hyphen verstanden werden.

Verschiedene Autoren wollten jedoch die beiden Arten handhaben. Hierbei rechneten sie zu *V. albo-atrum* die Typen mit lockeren, dunklen Hyphen und zu *V. dahliae* diejenigen mit Mikrosklerotien. Mit diesen Merkmalen sollten andere ebenfalls morphologische parallel gehen, ferner sollten sich die beiden Arten auch auf physiologischen Eigenschaften unterscheiden lassen. So soll zum Beispiel das Vorhandensein von Mikrosklerotien mit einer bestimmten Sporengrösse und mit einer charakteristischen Länge und Farbe der Sporenträger parallel gehen (KLEBAHN, 1913; VAN DER MEER, 1925). Obwohl bei den eigenen Untersuchungen in der Sporengrösse bei Einsporkulturen der beiden Typen deutliche Unterschiede gefunden werden konnten, verliefen diese doch nicht parallel mit dem Vorhandensein von lockeren, dunklen Hyphen oder von Mikrosklerotien. Die Länge und Verzweigung der Konidienträger und die Schnelligkeit ihrer Entwicklung war weitgehend von der Dichtheit der Hyphen an der betreffenden Stelle abhängig. Eine Beziehung zwischen diesen Faktoren und dem Vorhandensein oder Fehlen von Mikrosklerotien konnte jedenfalls nicht nachgewiesen werden. Die Angaben von KLEBAHN (1913), VAN DER MEER (1925) und ISAAC (1949) liessen sich daher nicht bestätigen.

Ferner besteht noch die Möglichkeit, dass sich die beiden Typen auf Grund von physiologischen Eigenschaften unterscheiden liessen, etwa durch Unterschiede in der Ausbreitung des Mycels auf verschiedenen Nährböden, in der Giftigkeit der gebildeten Toxine, in der Reaktion gegenüber einer bestimmten Temperatur oder in der Lebensfähigkeit im Boden.

Verticillium-Stämme von verschiedener Herkunft wichen in ihrem Wachstum auf bestimmten Nährböden oft stark voneinander ab, aber eine bestimmte Entwicklungsweise des Mycels war nie an einen der beiden *Verticillium*-Typen gebunden.

Auch die Giftigkeit der in vitro gebildeten Toxine variierte stark innerhalb der untersuchten *Verticillium*-Stämme. Eine Beziehung zwischen den morphologischen Eigenschaften und der phytotoxischen Wirkung der Kulturfiltrate konnte jedoch nicht gefunden werden. Ferner zeigte sich, dass zwischen dem Vorhandensein von Mikrosklerotien oder dunklen Mycelien und der Pathogenität keine Wechselbeziehungen bestehen. Dies trat vor allem beim Testen von Einsporkulturen ein und derselben Isolierung und von Saltanten von Einsporkulturen deutlich hervor, was im Gegensatz zu den Angaben von BEWLEY (1922), PRESLEY (1950) und NELSON (1950) steht.

Gewisse Beziehungen bestanden zwischen dem Vorhandensein von Mikrosklerotien und der Maximum-Temperatur, bei der die untersuchten *Verticillium*-Stämme noch zu wachsen vermochten. Die Typen mit lockeren, dunklen Hyphen starben in vitro bei 35° und 45° C schneller ab als die Mikrosklerotien bildenden Typen. Übereinstimmende Resultate wurden auch erhalten, wenn Sporensuspensionen dieser Stämme in Stengel von Balsaminen injiziert und die Pflanzen während 5, 10 oder 20 Tagen einer Temperatur von 35° C blossgestellt wurden.

Verticillium-Typen mit Mikrosklerotien bleiben demnach bei hohen Temperaturen länger lebensfähig als Typen mit lockeren, dunklen Hyphen. Trotzdem wäre es unzweckmässig, auf Grund einer Beziehung zwischen einem morphologischen und einem physiologischen Merkmal zwei Arten zu unterscheiden. Falls es notwendig wäre, einen Unterschied zwischen den beiden Formen zu machen, dann sollte man innerhalb der Art *V. albo-atrum* Reinke et Berth. formae unterscheiden, die man dann mit forma *microsclerotiale* und forma *myceliale* bezeichnen könnte. Die Grenzen dieser Formen lassen sich jedoch nicht scharf ziehen; diese sind vielmehr durch Übergangsformen miteinander verbunden.

2. Pathogenität

Aus den oben beschriebenen Versuchen geht hervor, dass *Verticillium albo-atrum* als Art eine grosse Zahl verschiedenartiger Wirtspflanzen hat. Um fest zu stellen, ob innerhalb der Art an bestimmte Nährpflanzen gebundene Formen bestehen, müsste man eine grosse Zahl Isolierungen auf einer ausgebreiteten Reihe von Wirtspflanzen auf ihre Pathogenität testen. Wohl beobachtete Nelson (1950) bei von *Mentha piperita* isolierten *Verticillium*-Stämmen eine Spezialisierung; diese gingen nur auf *Mentha*-Arten und auf *Monarda fistulosa* über. Von anderen Pflanzenarten isolierte *Verticillium*-Stämme sollten dagegen für *Mentha* nicht pathogen sein. Dieses Resultat konnten andere Autoren wie Green (1951), Horner (1954) und Thomas und Webb (1956) nicht bestätigen. Bei eigenen Versuchen ging ein von *Mentha piperita* isolierter *Verticillium*-Stamm auf *Fraxinus excelsior* über. Bei der eigenen Isolierung wie bei den von den genannten Autoren gebrauchten Stämmen handelte es sich also um nicht spezialisierte Formen. Anderseits isolierte auch Isaac (1957) von *Brassica* (Rosenkohl) einen *Verticillium*-Stamm, der bei Infektionsversuchen auf 10 verschiedenen Wirtspflanzen nur Rosenkohl zu befallen vermochte. Auch dieser Stamm scheint daher wie der von Nelson (1950) isolierte stark an eine bestimmte Wirtspflanze gebunden zu sein. Möglicherweise können auf *Brassica* neben spezialisierten auch *Verticillium*-Stämme mit einem weiten Wirtspflanzenkreis gefunden werden. Innerhalb *Verticillium albo-atrum* als Art finden sich also spezialisierte Stämme mit einem kleinen Wirtsspektrum, während andere polyphag sind und leicht von einer Wirtspflanzenart auf eine andere übergehen. Wenn *Verticillium albo-atrum* ein weites Wirtspflanzenspektrum zugeschrieben wird, will dies nicht sagen, dass nicht auch spezialisierte Stämme vorkommen können.

Bei den ungefähr 20 Stämmen, die hinsichtlich ihrer Pathogenität gegenüber etwa 10 verschiedenen Wirtspflanzen geprüft wurden, konnte keine engere, echte Spezialisierung gefunden werden. Wohl zeigten die verschiedenen Stämme in ihrer Pathogenität graduelle Unterschiede. Der aus Kartoffeln isolierte Stamm No. 21 war auf dieser Pflanze stärker pathogen als auf den anderen infizierten Pflanzen. Der aus Luzerne isolierte Stamm No. 30 wie auch die aus Tomaten isolierten Stämme No. 1, 19 und 37 zeigten dieselbe Tendenz.

Die von Tomaten isolierten Stämme breiteten sich auch viel besser in dieser Pflanze aus als die von anderen Phanerogamen isolierten. Die Ausbreitung des Pilzes in der Pflanze kann sowohl durch den Transport von in den Gefässen gebildeten Konidien wie durch Mycelwachstum stattfinden.

3. Die Toxizität

Alle hinsichtlich ihrer Toxizität geprüften *Verticillium*-Stämme bildeten in vitro toxische Stoffe. Die Blätter der auf die Kulturfiltrate gesetzten Tomatentriebe verwelkten, die Blattränder rollten ein oder die Interkostalfelder verfärbten sich; oft erschlafften auch die Stengel. Aus der Tatsache, dass die verschiedenen Kulturfiltrate abweichende Symptome hervorriefen, wird abgeleitet, dass die in vitro gebildeten Toxine verschiedenartig sind oder aus verschiedenen Komponenten bestehen.

Das Kulturfiltrat eines bestimmten Stammes verursachte auf Tomatentrieben stets deutlichere Symptome als das eines anderen. Ähnliche Verhältnisse in der Toxizität von Kulturfiltraten wurden auch an Trieben von *Mentha piperita*, *Antirrhinum majus* und *Impatiens balsamina* beobachtet. Wohl war die Empfindlichkeit dieser Pflanzen gegenüber den Kulturfiltraten geringer als diejenige der Tomatentriebe.

Bei den untersuchten *Verticillium*-Stämmen konnten keine Wechselbeziehungen zwischen der Toxinbildung in vitro und der Pathogenität gefunden werden. Dies stimmt mit den Resultaten überein, die Talboys (1957) bei Versuchen mit einigen aus Hopfen isolierten *Verticillium*-Stämmen erhielt. Die Pathogenität eines bestimmten Stammes ist nicht nur abhängig von der Fähigkeit Toxine zu bilden. Der Pilz muss auch in die Pflanzenwurzel eindringen und sich in den Gefässen ausbreiten können. Dazu waren gewisse *Verticillium*-Stämme auf Tomaten nicht imstande, andere aber wohl. Bemerkenswert ist jedoch, dass anderseits *Verticillium*-Stämme mit den genannten Fähigkeiten oft doch auf bestimmten Wirtspflanzen keinen schädigenden Einfluss auszuüben vermochten. So produzierte z.B. der *Verticillium*-Stamm No. 19 in vitro toxische Stoffe, vermochte in die Wurzeln von *Chrysanthemum leucanthemum* einzudringen und den Stengel fast bis zur Spitze zu besiedeln, verursachte aber keine sichtbaren Symptome. Wahrscheinlich vermochte der Pilz in dieser Pflanze keine Toxine zu bilden oder diese wurden wohl gebildet, konnten jedoch auf die Pflanze keine schädigende Wirkung ausüben. Dagegen verwelkten die mit diesem Stamm gleichzeitig infizierten Tomatenpflanzen.

4. Verticillium als Bodenbewohner (Lebensdauer im Boden)

Durch Mycelwachstum vermag sich *Verticillium* nur in sterilisierten Böden auszubreiten. In nicht steriler und in mit Dampf sterilisierter Erde, in die *Verticillium*-kranke Balsaminen- und *Antirrhinum*-Pflänzchen gesetzt wurden, ging der Pilz nur durch Kontakt mit vom Pilz befallenen, abgestorbenen Wurzelteilen auf gesunde, benachbarte oder später gesetzte Pflanzen über. Der Pilz konnte sich im Boden

nur auf den Resten der befallenen Pflanzen handhaben, während er den Boden selbst als Folge der antagonistischen Wirkung der andern Mikroorganismen nicht zu besiedeln vermochte.

Auch in vorher sterilisierter Erde konnte der Pilz nur während kurzer Zeit nach dem Einbringen (in Form von Schüttelkulturen) zurückgefunden werden. Wohl verbreitete er sich im Laufe einer Saison in nicht sterilisierter Gartenerde von den Wurzeln von mit zum d.M.- und zum Mskl-Typus gehörenden Stämmen infizierten *Antirrhinum*-Pflanzen aus nach benachbarten, ursprünglich gesunden Pflanzen. Als an den betreffenden Stellen im folgenden Frühjahr wiederum *Antirrhinum* gepflanzt wurde, liess sich von der Zahl der erkrankenden Pflanzen ableiten, dass sich der Pilz weiter ausgebreitet hatte. Während der folgenden zwei Jahre nahm die Zahl der erkrankten *Antirrhinum*-Pflanzen stark ab. In dem mit einem zum d.M.-Typus gehörenden Stamm verseuchten Boden erkrankten nach vier Jahren keine Pflanzen mehr; in dem mit einem Mskl-Stamm verseuchten nur noch vereinzelte.

Nachdem das Verhalten des Pilzes in der Pflanze und im Boden näher bekannt ist, kann man sich fragen, ob *Verticillium* in dem von Garrett (1944) angegebenen Sinne ein typischer Bodenpilz ist oder nicht. Zu den echten Bodenpilzen, die die bodenbewohnende Mikroflora ausmachen, gehören nach diesem Autor auch tiefstehende, nicht an bestimmte Wirtspflanzen gebundene Parasiten, die im Boden verbreitet vorkommen. Ihr parasitäres Auftreten betrachtet er im Verhältnis zu ihrer saprophytischen Lebensweise als nebensächlich. Zu der Gruppe, die Garrett (1944) im Gegensatz zu diesen "soil-inhabitants" "soil-invaders" nennt, rechnet er stärker an ihre Wirtspflanzen gebundene Pilze, deren Anwesenheit im Boden im allgemeinen mit dem Vorkommen ihrer Wirtspflanzen zusammengeht. Wird die Wirtspflanze während längerer Zeit nicht mehr angebaut, dann sterben diese Pilze in den betreffenden Böden aus. Im Konkurrenzstreit mit den Bodensaprophyten werden sie völlig eliminiert.

Es ist schwierig, sowohl die zum Mskl-Typus als zum d.M.-Typus gehörenden Formen von *Verticillium* in einer der von Garrett (1944) aufgestellten Gruppen unterzubringen. *Verticillium* kann für eine gewisse Zeit im Boden leben, wird aber schlussendlich durch die anderen Boden-Mikroorganismen verdrängt (vgl. S. 718). Erst nach einer Passage durch eine Wirtspflanze kann sich der Pilz im Boden erneut während einiger Zeit im Stande halten. In dieser Hinsicht muss *Verticillium* als ein "Soil-invader" betrachtet werden (Wilhelm, 1951). Die echten Bodenbewohner sind nicht an bestimmte Wirtspflanzen gebunden; aber auch *Verticillium* ist ein auf vielen Wirtspflanzen vorkommender Parasit. Die durch Garrett (1944) gemeinten, nicht spezialisierten Bodenbewohner wie *Penicillium*- und *Aspergillus*-Arten, *Mucorinaee* oder *Trichoderma* sind jedoch Pilze, die nur auf absterbenden, toten Pflanzen oder auf anderem organischem Material leben können. Bei diesen Formen kann man nicht von einer Wirtspflanzen-Reihe sprechen, so dass der Begriff "nicht spezialisiert" bei Garrett (1944) in einem anderen Sinne auf-

gefasst werden muss als bei polyphagen Parasiten wie *Verticillium*.

Aus Mikrosklerotien, die auf einen Agarboden gebracht wurden, entwickelten sich leicht neue Mycelrasen. Wahrscheinlich entwickelten sich hierbei die diesen anhängenden Hyphen weiter oder die zwischen den dunklen Zellen liegenden Sporen keimten. Diese Hyphen und Sporen konnten durch Desinfizierung, Austrocknung oder Inkubation bei hoher Temperatur (47° C) abgetötet werden; in diesem Falle entwickelten sich aus den Mikrosklerotien keine neuen Kolonien mehr. In keinem Falle konnte eine Keimung der Zellen der eigentlichen Mikrosklerotien beobachtet werden. Auch Wurzelsekrete konnten die dickwandigen Zellen nicht zu einer Keimung stimulieren.

5. Massnahmen zur Bekämpfung von Verticillium

Verticillium kommt in den Stengeln und Wurzeln der befallenen Pflanzen vor. Sterben diese ab, dann durchwächst der Pilz von den Gefässen aus den Cortex und bildet bei feuchter Witterung oberflächliche Konidienträger mit Konidien. Die Verfrachtung und Keimung dieser Konidien kann die Infektion von noch gesunden Pflanzen einleiten. Auf diese Art kann sich der Pilz im Leben erhalten. Das Ausziehen von kranken Pflanzen hat oft eine Verseuchung der Umgebung zur Folge, indem befallene Wurzelteile im Boden zurückbleiben. Wichtig ist nun, dass die im Boden zurückbleibenden Pflanzenteile schnell abgebaut werden. Dann verschwindet auch *Verticillium* wieder als Folge der antagonistischen Wirkung der Boden-Mikroorganismen. Eine gute Bodenstruktur und Entwässerung, sowie eine reichliche organische Düngung haben eine reiche Mikroflora und damit einen schnellen Abbau von *Verticillium* zur Folge.

Wenn in einem Boden zwei Jahre nacheinander dasselbe Gewächs gepflanzt wird, kann der Verseuchungsgrad des Bodens zunehmen. Will man daher in einer verseuchten Parzelle den weiteren Aufbau des Inokulums verhindern, so muss man im folgenden Jahr ein für den Pilz unanfälliges Gewächs pflanzen.

Von Wichtigkeit ist auch eine gute Bekämpfung der Unkräuter da diese dem Pilz als Wirtspflanzen dienen können. Hierbei entstehen auf ihnen teilweise keine Symptome oder sie bleiben als Folge des Befalls nur kleiner.

Eine Bekämpfung von *Verticillium* mit Fungiziden hatte bisher wenig Erfolg. Die Züchtung von resistenten Rassen oder Unterstämmen kann möglicherweise günstige Resultate liefern, da nicht alle *Verticillium*-Stämme die gleiche Pathogenität gegenüber einer bestimmten Wirtspflanze besitzen. Man muss jedoch immer damit rechnen, dass eine gegenüber einem bestimmten *Verticillium*-Stamm resistente Varietät von einem anderen Stamm befallen werden kann.

VI. SUMMARY

1. Morphology

The *Verticillium* strains pathogenic on phanerogams are described chiefly in the literature under the names *V. albo-atrum* Reinke et Berth. and *V. dahliae* Klebahn.

The difference between the two species is based mainly on the occurrence of a resting stage consisting of bundled dark hyphae in the species *V. albo-atrum* and of microsclerotia in the species *V. dahliae*. In later years *Verticillium* strains, which formed loose dark hyphae in vitro, were also brought into the species *V. albo-atrum*.

In these investigations a large number of *Verticillium* strains were subjected to a further research, in order to find out if there really were two species. Attention was paid not only to the morphology, but also to some physiological aspects e.g. toxin formation and pathogenicity.

From 70 *Verticillium* strains, isolated from different hosts and many places in the Netherlands, we found in two strains only the bundled dark hyphae, as described by Reinke and Berthold (1879) for the species *V. albo-atrum*. These bundled hyphae fell to pieces after some time and the individual cells then started budding, similarly to those of young microslerotia, with the result that the clumps of cells could no longer be distinguished from microsclerotia. These strains would then be considered as being in the species *V. dahliae*, so that they may be regarded as having moved from one "species" into the other.

Attention was next paid to the *Verticillium* strains with loose dark hyphae the d.m.-type, these being compared with strains containing microsclerotia, the mscl-type. The measurements of the spores of both types provided no real basis for the separation of two species. There were indeed significant differences in the average length and width of the spores of some *Verticillium* strains, but these differences could not be correlated with the occurrence of microsclerotia or loose dark hyphae. Neither type could be distinguished on the basis of spore form. These findings are in agreement with those of Presley (1941), who obtained from one mono-spore culture saltants of both types. On morphological grounds the two species cannot be maintained and because the name *V. albo-atrum* Reinke and Berthold has priority, we must place all the strains investigated by the author in this species.

2. Physiological Properties

a. *The influence of temperature*

The reactions of the two types to high temperatures were different. In vitro the d.m.-type died sooner than the mscl-type at temperatures of 35° C and higher. The optimum and maximum temperatures for mycelial growth were also higher for the mscl-type than for the d.m.-type.

A strain of the mscl-type was able to produce symptoms on and even to kill *Impatiens balsamina* plants, when these were incubated for 20 days after inoculation at a temperature of 35° C. A strain of the d.m.-type did not produce any symptom after the same treatment. This latter *Verticillium* strain had died in the plants during the incubation period at 35° C. This proves that the mscl-type is also better able to resist high temperatures in the plant.

b. *Toxin formation*

All *Verticillium* strains here investigated formed toxic substances in vitro. Leaves of tomato shoots, placed in the filtered culture liquid, wilted, the margins of the leaves curled, the intercostal areas became discoloured and the stems flaccid. In addition leafy shoots of *Impatiens balsamina*, *Anthirrhinum majus* and *Mentha piperita* were damaged by toxic substances present in the culture liquid. The severity of the damage and the rapidity of the appearance of the symptoms were used as a standard for the phytotoxicity of the toxins formed. These proved to be specific to individual *Verticillium* strains; but the toxicity did not correlate with the pathogenicity of the strains investigated nor with the morphological type.

c. *Pathogenicity*

The penetration of the fungus into the plant takes place through the root-hairs or directly through the cortex of the root. The formation of "lignitubers" could not be found in the roots either of *Lupinus luteus* or of *Impatiens balsamina*. The spread of the fungus in the plant was traced in *Impatiens balsamina* and *Fraxinus excelsior*. It was found that spread of the fungus through the vessels was possible

both by mycelium growth and also by the transport of spores, formed in the vessels, with the transpiration stream.

Some strains which produced toxic substances, were scarcely pathogenic. Probably they are unable to penetrate or find difficulty in penetrating into the plant or else they are not able to spread within it.

Other strains, which form toxic substances in vitro, could penetrate and spread in *Solanum nigrum* and *Chrysanthemum leucanthemum;* but these weeds showed no symptoms at all. This toleration could be explained by a far lower sensitivity of the tissues of these plants to the toxic substances formed by the fungus.

The great diversity in character of the *Verticillium* strains in morphological as well as in physiological respects, makes it impossible to maintain the two species. On physiological grounds it should be possible to distinguish within the species *V. albo-atrum* Reinke and Berthold a mycelial form and a microsclerotial form.

3. Specialization

It was proved by cross inoculations with *Verticillium* strains of different origins on a great number of host plants, that the investigated strains certainly showed differences in pathogenicity, but specialized strains with a narrow host range (Nelson, 1950; Isaac, 1957) could not be found.

Only the *Verticillium* strains isolated from tomato always produced more distinct symptoms after inoculation into tomato than those strains isolated from other plant species. These latter *Verticillium* strains proved by reisolation to possess a very poor power of spread in the tomato plant, while the *Verticillium* strains originally isolated from tomato could be re-isolated much more widely. In other experiments too, the tomato occupied a particular place as host. A *Verticillium* strain, originally isolated from *Antirrhinum*, proved to be more pathogenic towards tomato after three passages through this plant, while its pathogenicity to *Antirrhinum* did not change. A *Verticillium* strain isolated from tomato, however, kept its pathogenic character with respect to this plant after several passages through *Antirrhinum*. The pathogenicity with respect to *Antirrhinum* did not increase. It seems that the tomato affects pathogenicity in a peculiar and inexplicable manner.

4. The Behaviour of Verticillium in the Soil

Verticillium spreads in sterile soil only by means of the growth of hyphae. In originally steamed soil, containing *Impatiens* plants, which were subsequently inoculated with a *Verticillium* spore suspension, it could be shown that spread was only by means of infected dead root particles. In non-sterilized soil the same result was achieved with plants of *Anthirrhinum majus*. The fungus could apparently maintain itself in competition with the microflora of the soil only on organic remains.

Also *Verticillium* could not maintain itself, if inoculum was brought directly into originally steamed soil, without any other organic material. It died out, probably under the influence of other micro-organisms, which developed later.

The fungus could spread in one season through non-steamed soil from the roots of *Antirrhinum* plants inoculated with both a strain of the d.m.-type and the mscl-type, to neighbouring plants. In the following year *Antirrhinum* plants were again put out in the places occupied by the previous year's plants. From the number which developed the disease it could be concluded, that the fungus had spread further than the previous year. In the following two years the experiment was continued. The number of *Antirrhinum* plants, that became attacked, then diminished markedly. The strain of the d.m.-type was no longer able to attack *Antirrhinum* plants four years after the beginning of the experiments; the strain of the mscl-type still attacked them, but only slightly, after the same period. It here appears that *Verticillium* has more the character of a soil-invader than of a soil-inhabitant (Garrett, 1944).

5. The Germination of Microsclerotia

New colonies easily developed from microsclerotia, which were brought on to an agar-medium. Probably the attached hyphae or the spores laying between the dark, thick-walled cells grew out. It was possible to kill these hyphae and spores

by desinfection, drying or exposure to high temperature; no development of new colonies then took place. In no instance did the cells of the microsclerotia themselves germinate. Nor could root secretions stimulate the thick-walled cells to further development. Most probably the microsclerotia are organs with a stock of food, from which the old hyphae may profit and grow afresh.

6. The Control of Verticillium

Infected dead root and stem remains can form a focus of contamination for the surrounding healthy roots. Contaminated plant material must therefore be destroyed or the destruction of it must be aided by soil cultivation. The degree of contamination of the soil can be decreased by the activity of soil micro-organisms. A good soil structure and an definite crop rotation will exercise a favourable influence on the state of health of the plants. The degree of contamination increases as a result of repeated cultivation of the same susceptible crop until the second year after infection. It is therefore necessary to cultivate a crop that is not susceptible to *Verticillium* the year after an infection, so that a building up of inoculum can be prevented.

Some weeds may contain the fungus without any symptoms, or occasionally the plants are merely smaller than non-infected ones. From this point of view it is also of importance to pay attention to weed control.

Control by chemical treatment still leaves much to be desired. The cultivation of resistant varieties will probably give some temporary improvement, because not all *Verticillium* strains have the same pathogenicity for a certain hostplant. We must, however, take into account that a variety, resistant in one place, need not be so in another because there may be other *Verticillium* strains present in the soil there.

LITERATUR

Aderhold, R. 1907. Über eine Trombose der Johannis- und Stachelbeere. Mitt. K. biol. Anst., Berl. Hft *4*: 26–27.

Akeley, R. V., F. J. Stevenson, D. Folsom und R. Bonde. 1956. Breeding varieties of potato resistant to *Verticillium* in Maine. Am. Potato J. *33*: 15–21.

Ark, P. H. und M. L. Hunt. 1931. Saprophytes antagonistic to phytopathogenic and other microörganisms. Science *93*: 354–355.

Arnaud, G. und J. Barthelet. 1931. Recherches sur les dépérissements des arbres d'alignement. Ann. Epiphyties *17*: 249–323.

Arnstein, H. R. V., A. H. Cook und M. S. Lacey. 1948. The inhibition of *Fusarium oxysporum* var. *cubense* by musarin, an antibiotic. J. Gen. Microbiol. *2*: 111–122.

Banfield, W. M. 1937. Distribution of spores of wilt-inducing fungi throughout the vascular system of the elm by sap stream. Phytopathology *27*: 121–122.

Berkeley, G. H. und A. B. Jackson. 1926. *Verticillium* wilt of the red raspberry. sci. Agr. *6*: 261–270.

Bewley, W. F. 1922. Sleepy disease of tomato. Ann. appl. Biol. *9*: 116–134.

Brierley, W. B., S. T. Jewson und M. Brierley. 1927. The quantitative study of soil fungi. Proc. and Papers 1st Intern. Congr. Soil Sci. *3*: 13–37.

Caroselli, N. E. 1955. Investigations of toxins produced in vitro by the maple wilt fungus *Verticillium* sp. Phytopathology *45*: 183–184.

Dimock, A. W. 1940. Importance of *Verticillium* as pathogen of ornamental plants. Phytopathology *30*: 1054–1055.

Donandt, S. 1932. Untersuchungen über die Pathogenität des Wirtelpilzes *Verticillium albo-atrum* R.u.B. Z. Parasitenk. *4*: 653–711.

Dufrénoy, J. 1927. Etude experimentale des relations des *Verticillium* et leur hôtes. Rev. Path. veg. *14*: 207–214.

Ende, G. van den. 1956. De reacties van verschillende waardplanten bij aantasting door *Verticillium* spp. T. Plantenziekten *62*: 21.

Florey, W. H., K. Gilliver, M. A. Jennings und A. G. Sanders. 1946. Mycophenolic acid, an antibiotic from *Penicillium brevicompactum* Dierckx. Lancet *250*: 46–49, NCTC 3568.

FULTON, R. H. 1952. Studies on *Verticillium* wilt of Raspberry. Phytopathology *42*: 8.

GARRETT, S. D. 1944. Root disease fungi. Waltham Mass. U.S.A.

GOTTLIEB, D. 1943. Toxin in Tomato wilt. Phytopathology *33*: 126–135.

GREEN, R. J. 1951. Studies on the host range of the *Verticillium* that causes wilt of *Mentha piperita* L. Science *113*: 207–208.

————. 1954. The role of nitrites in the wilt response induced by *Verticillium albo-atrum* R.u.B. Phytopathology *44*: 490.

HAENSELER, C. M. 1923. Studies on Eggplant wilt. Rep. Dep. Plant Path. New Jersey Agric. Coll. exp. Sta. 1921: 469–472.

HARRIS, R. V. 1956. *Verticillium* of Hops. Rep. E. Malling Res. Sta. 1955: 38–39.

HARTER, L. L. und E. C. FIELD. 1914. Die Welkekrankheit der Süsskartoffel. Z. Pflanzenkrankh. *24*: 204–207.

HORNER, C. E. 1954. Pathogenicity of *Verticillium* isolates to peppermint. Phytopathology *44*: 239–243.

ISAAC, I. 1946. *Verticillium* wilt of sainfoin. Ann. appl. Biol. *33*: 28–34.

————. 1949. A comparative study of pathogenic isolates of *Verticillium.* Trans. Brit. mycol. Soc. *32*: 137–158.

————. 1953*a*. Studies in the interactions between species of *Verticilium.* Ann. appl. Biol. *40*: 623–629.

————. 1953*b*. The spread of diseases caused by species of *Verticillium.* Ann. appl. Biol. *40*: 630–639.

————. 1953*c*. A further comparative study of pathogenic isolates of *Verticillium: V. nubilum* Pethybridge and *V. tricorpus* sp. nov. Trans. Brit. mycol. Soc. *36*: 180–195.

————. 1954. Studies in the antagonism between *Blastomyces luteus* and species of *Verticillium.* Ann. appl. Biol. *41*: 305–311.

————. 1957. *Verticillium* wilt of Brussels sprout. Ann. appl. Biol. *45*: 276–283.

———— und R. R. DAVIES. 1955. A new hyaline species of *Verticillium: V. intertextum* sp. nov. Trans. Brit. mycol. Soc. *38*: 143–156.

JOHANSEN, D. A. 1940. Plant Microtechnique. McGraw Hill, New York–London.

KEULS, M. 1952. The use of the "studentized range" in connection with an analysis of variance. Euphytica *1*: 112–122.

KEYWORTH, W. G. 1942. *Verticillium* wilt of the hop. Ann. appl. Biol. *29*: 346–357.

————. 1952. *Verticillium* wilt in Connecticut. Plant Dis. Rep. *36*: 16–17.

KIESSIG, R. und R. HALLIER–KIESSIG. 1957. Beitrag zur Kenntnis einer infektiösen Welkekrankheit der Luzerne (*Verticillium albo-atrum* R.u.B.). Phytopathol. Z. *31*: 185–222.

KLEBAHN, H. 1913. Beiträge zur Kenntnis der Fungi Imperfecti. I. Eine *Verticillium*-Krankheit auf Dahlien. Mykol. Zbl. *3*: 49–66.

LEK, H. A. A. VAN DER. 1918. Onderzoekingen over tracheomycosen: De Verticilliose van de komkommer. Meded. Landbouwhogeschool, Wageningen *15*: 1–45.

LESLEY, J. W., J. F. MIDDLETON und C. D. MCCARTY. 1952. Simi, a processing tomato resistant to *Verticillium* and *Fusarium* wilts. Hilgardia *21*: 289–299.

LONGRÉE, K. 1940. Wilt of salsify, caused by *Verticillium* sp. Phytopathology *30*: 981–983.

LUDBROOK, W. V. 1933. *Verticillium* hadromycosis. Phytopathology *23*: 117–155.

MCKAY, M. B. 1926. Further studies of potato wilt caused by *Verticillium albo-atrum.* J. agric. Res. *32*: 437–470.

MCKEEN, C. D. 1943. Studies of some factors affecting the pathogenicity of *Verticillium albo-atrum* R. & B. Can. J. Res. Sect. C. *21*: 95–117.

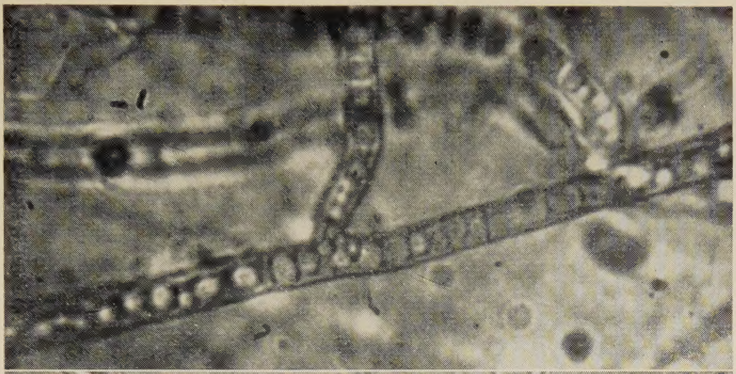
MEER, J. H. H. VAN DER. 1925. *Verticillium* wilt of herbaceous and woody plants. Meded. Landbouwhogeschool, Wageningen *28*: 1–82.

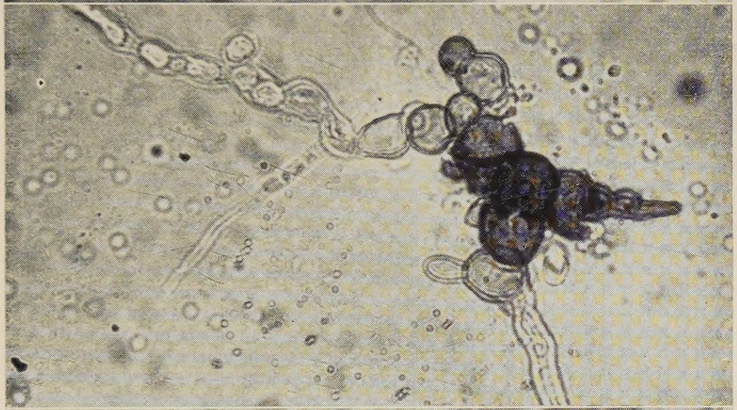
NATTI, J. J. 1958. *Verticillium* wilt of broccoli and cauliflower in New York. Phytopathology *48*: 264.

NELSON, R. 1950. *Verticillium* wilt of peppermint. Mich. Agric. exp. Sta. techn. Bull. *221*: 1–259.

PEGG, G. E. 1957. A hyaline variant of *Verticillium albo-atrum* pathogenic to tomato plants. Phytopathology *47*: 57–58.

Pethybridge, G. H. 1916*a*. The *Verticillium* disease of potato. Sci. Proc. Roy. Dublin Soc. N.S. *15*: 63–93.
———. 1916*b*. Investigations on potato diseases. Dep. Agric. techn. Instr. Ireland, 7th Rpt.: 22–26.
Picado, C. 1923. Sur l'action à distance des champignons phytopathogènes. Congr. Path. veg. Strassbourg: 28–34.
Porter, C. L. 1954. A control program for the wilt disease of *Mentha piperita* L. caused by *Verticillium albo-atrum* R.u.B. 8-ième Congr. intern. Bot. Paris Sect. *20*: 158–160.
——— und R. J. Green. 1952. Production of exotoxin in the genus *Verticillium*. Phytopathology *42*: 472.
Presley, J. T. 1941. Saltants from a monosporic culture of *Verticillium albo-atrum*. Phytopathology *31*: 1135–1139.
———. 1950. *Verticillium* wilt of cotton. Phytopathology *40*: 497–511.
Rankin, W. H. 1914. Thrombotic disease of maple. Phytopathology *4*: 395–396.
Reinke, J. und G. Berthold. 1879. Die Zersetzung der Kartoffel durch Pilze. Untersuch. bot. Lab. Univ. Göttingen: 67–96.
Roberts, F. M. 1943. Factors influencing infection of the tomato by *Verticillium albo-atrum*. Ann. appl. Biol. *30*: 327–331.
Rudolph, B. A. 1931. *Verticillium* hadromycosis. Hilgardia *5*: 197–353.
Scheffer, R. P., S. S. Gothoskar, C. F. Pierson und R. P. Collins. 1956. Physiological aspects of *Verticillium* wilt. Phytopathology *46*: 83–87.
Talboys, P. W. 1957. The possible significance of toxic metabolites of *Verticillium albo-atrum* in the development of hop wilt symptoms. Trans. Brit. mycol. Soc. *40*: 415–427.
Thomas, C. A. und R. E. Webb. 1956. Peppermint wilt induced by a *Verticillium* isolate from potato. Phytopathology *46*: 238.
Tompkins, C. M. und P. A. Ark. 1941. *Verticillium* wilt of strawflower. Phytopathology *31*: 1130–1135.
Tourneau, D. le. 1957. The production of oligosaccharides by *Verticillium albo-atrum*. Phytopathology *47*: 527.
Veen, R. van der. 1930. Onderzoekingen over tracheomycosen. Diss. Utrecht.
Vernon, T. R. 1931. An improved type of moist chamber for studying fungal growth. Ann. Bot., Lond. *45*: 733–738.
Walker, J. C. und R. E. Foster. 1946. Plant nutrition in relation to disease development *Fusarium* wilt of tomato. Am. J. Bot. *32*: 259–264.
Warcup, J. H. 1950. The soil plate method for isolation of fungi from soil. Nature *166*: 117–118.
Wellman, F. L. 1939. A technique for studying host resistance and pathogenicity in tomato *Fusarium* wilt. Phytopathology *29*: 945–956.
Wilhelm, S. 1950*a*. Vertical distribution of *Verticillium albo-atrum* in soils. Phytopathology *40*: 368–375.
———. 1950*b*. *Verticillium* wilt in acid soils. Phytopathology *40*: 776–777.
———. 1951. Is *Verticillium albo-atrum* a soil invader or a soil inhabitant. Phytopathology *41*: 944–945.
———. 1954*a*. *Verticillium* wilt resistance in strawberry. Phytopathology *44*: 510.
———. 1954*b*. Aerial microsclerotia of *Verticillium* resulting from conidial anastomosis. Phytopathology *44*: 609–610.
———. 1955*a*. Longevity of the *Verticillium* wilt fungus in the laboratory and field. Phytopathology *45*: 180–181.
———. 1955*b*. *Verticillium* wilt of the strawberry in special reference to resistance. Phytopathology *45*: 387–392.
Winstead, N. N. und J. C. Walker. 1954. Production of vascular browning by metabolites from several pathogens. Phytopathology *44*: 153–158.
Wollenweber, H. W. 1930. Die Wirtelpilz-Welkekrankheit (Verticilliose) von Ulme, Ahorn und Linde usw. Arb. biol. Anst., Berl. *17*: 271–299.





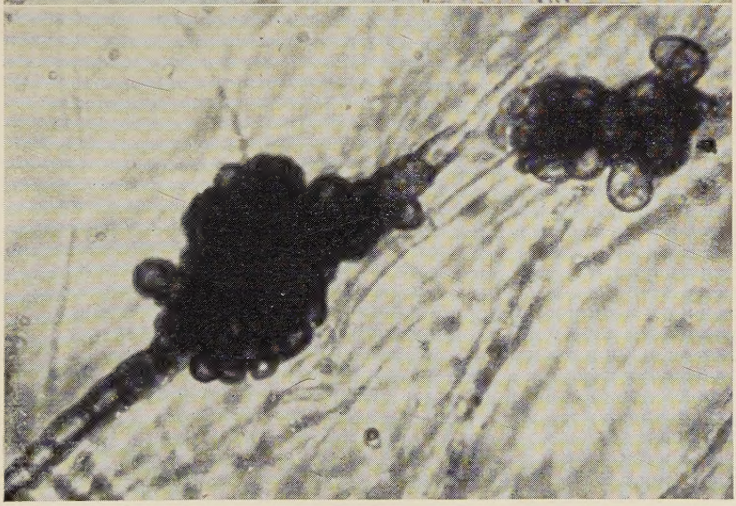
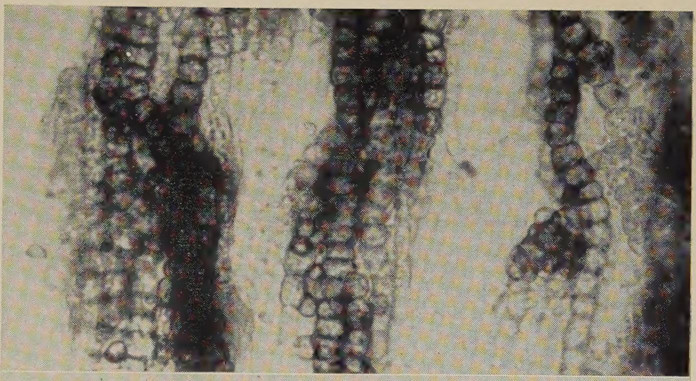
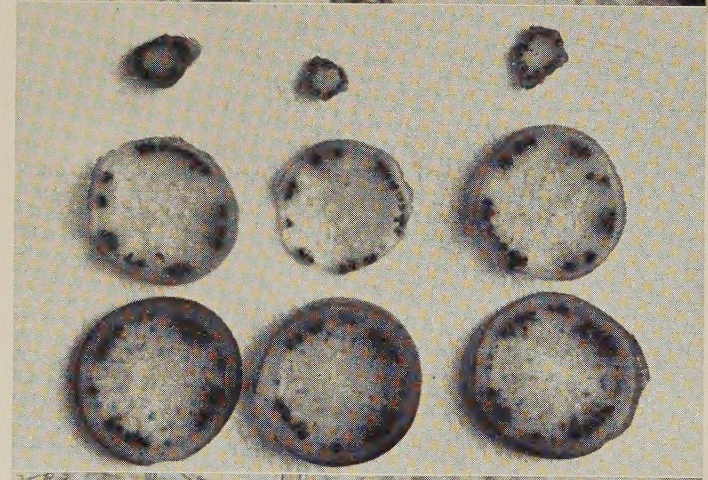


Abb. 3. Einzelne, dunkle Hyphe eines zum d.M.-Typus gehörenden Stammes, Vergr. 1500 mal.

Abb. 4. Beginn der Bildung eines Mikrosklerotiums, Vergr. 1500 mal.

Abb. 5. Ausgewachsene Mikrosklerotien, Vergr. 800 mal.





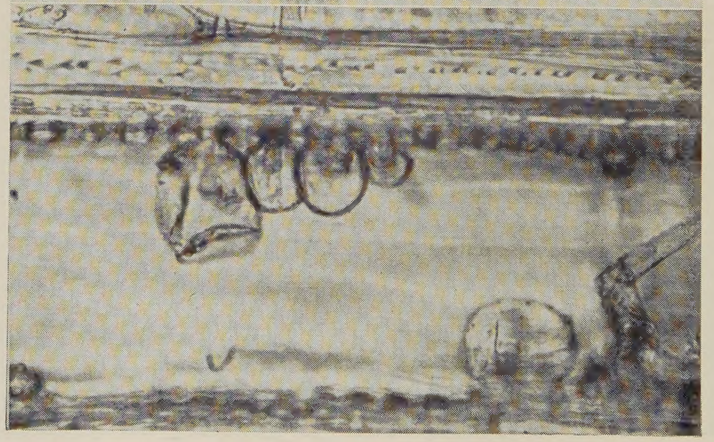
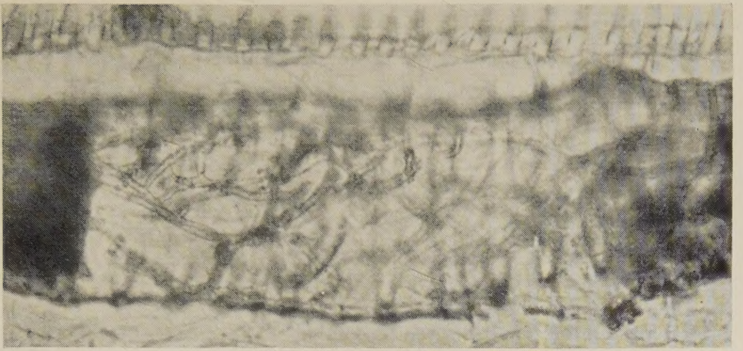


Abb. 6. Gebündelte dunkle Hyphen, Vergr. 1500 mal.
Abb. 9. Querschnitte durch den Stengel einer von *Verticillium* befallenen Balsamine, Vergr. 1 ×.
Abb. 10. Thyllenbildung im Xylem einer von *Verticillium* befallenen Balsamine, Vergr. 750 mal.



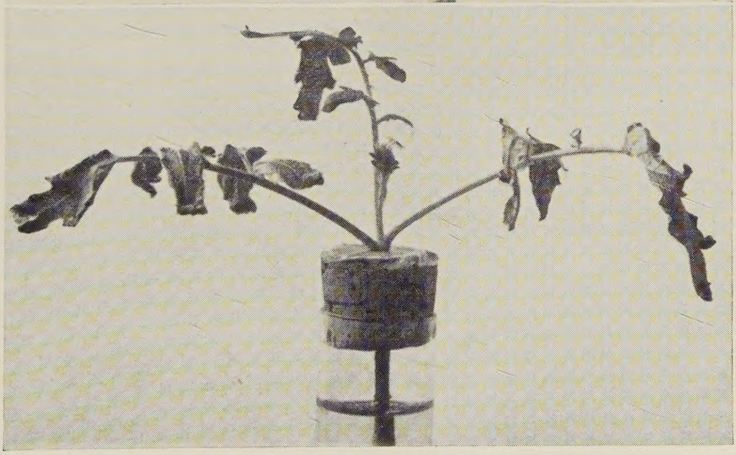
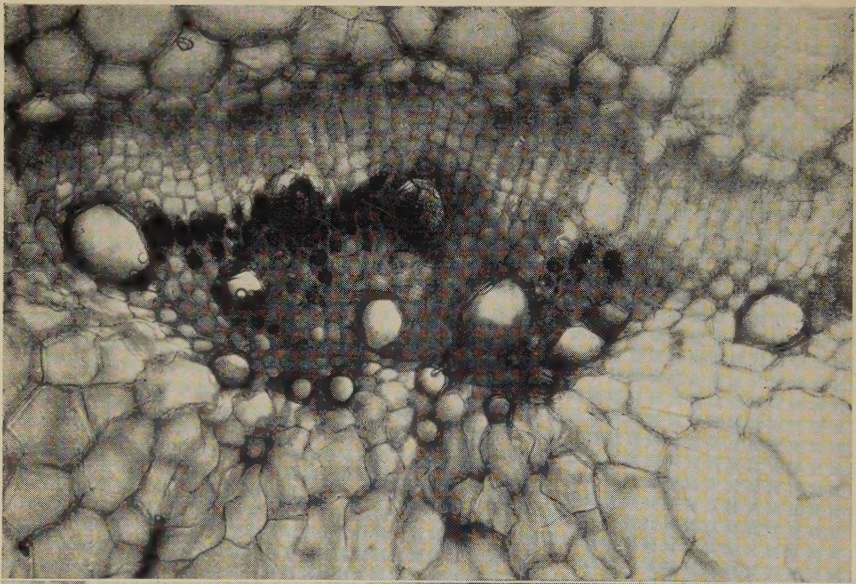


Abb. 11. Hyphen von *Verticillium* in einer dunkel verfärbten Gefässzelle der Balsamine, Vergr. 750 mal.

Abb. 13. Tomatentriebe auf Kulturfiltrat von *Verticillium*, nach 12 Stunden.

Abb. 14. Tomatentriebe auf Kulturfiltrat von *Verticillium*, nach 24 Stunden.



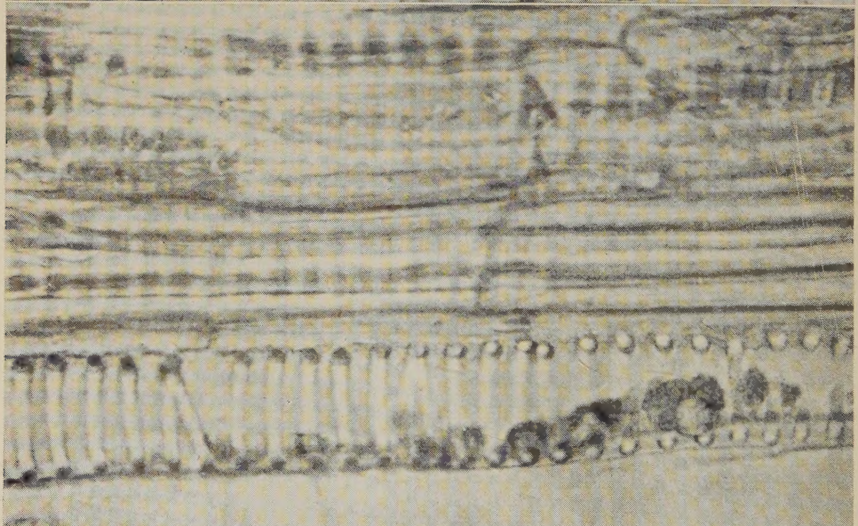


Abb. 15. Querschnitt durch einen Balsaminenstengel, der 24 Stunden in einem Kulturfiltrat von *Verticillium* gestanden hatte, Vergr. 250 mal.

Abb. 16. Längsschnitt durch einen Balsaminenstengel, der 24 Stunden in einem Kulturfiltrat von *Verticillium* gestanden hatte, Vergr. 500 mal.